

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΚΑΡΔΙΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**



**ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΥΠΩΝ ΚΟΛΛΑΓΟΝΟΥ
ΠΟΥ ΣΧΗΜΑΤΙΖΟΥΝ ΙΝΙΔΙΑ ΣΤΑ ΑΝΕΥΡΥΣΜΑΤΑ
ΤΗΣ ΑΝΙΟΥΣΑΣ ΘΩΡΑΚΙΚΗΣ ΑΟΡΤΗΣ**

ΙΩΑΝΝΗΣ Κ. ΤΟΥΜΠΟΥΛΗΣ

ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ ΘΩΡΑΚΟΣ-ΚΑΡΔΙΑΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος ΙΙ. Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου.



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

ΙΟΥΝΙΟΣ 2014

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΚΑΡΔΙΟΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**



**ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΥΠΩΝ ΚΟΛΛΑΓΟΝΟΥ
ΠΟΥ ΣΧΗΜΑΤΙΖΟΥΝ ΙΝΙΔΙΑ ΣΤΑ ΑΝΕΥΡΥΣΜΑΤΑ
ΤΗΣ ΑΝΙΟΥΣΑΣ ΘΩΡΑΚΙΚΗΣ ΑΟΡΤΗΣ**

ΙΩΑΝΝΗΣ Κ. ΤΟΥΜΠΟΥΛΗΣ

ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΣ ΘΩΡΑΚΟΣ-ΚΑΡΔΙΑΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΟΥΝΙΟΣ 2014

Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος ΙΙ. Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου.



Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Ρίζος Ιωάννης, Αναπληρωτής Καθηγητής Καρδιολογίας, Επιβλέπων

Αναγνωστόπουλος Κωνσταντίνος, Ομότιμος Καθηγητής Καρδιοχειρουργικής

Ανάγνου Νικόλαος, Καθηγητής Μοριακής Βιολογίας

Μέλη Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής:

Ρίζος Ιωάννης, Αναπληρωτής Καθηγητής Καρδιολογίας, Επιβλέπων

Αναγνωστόπουλος Κων/νος, Ομότιμος Καθηγητής Καρδιοχειρουργικής, Μέλος

Ανάγνου Νικόλαος, Καθηγητής Μοριακής Βιολογίας, Μέλος

Πατσούρης Ευστράτιος, Καθηγητής Παθολογικής Ανατομίας, Μέλος

Κακίσης Ιωάννης, Αναπληρωτής Καθηγητής Αγγειοχειρουργικής, Μέλος

Ραλλίδης Λουκιανός, Επίκουρος Καθηγητής Καρδιολογίας, Μέλος

Κρούπης Χρήστος, Επίκουρος Καθηγητής Κλινικής Βιοχημείας και Μοριακής

Διαγνωστικής, Μέλος

Ημερομηνία Κατάθεσης Διατριβής: 6-6-2014

Βαθμός Διδακτορικής Διατριβής: «ΑΡΙΣΤΑ»

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών δεν υποδηλώνει την αποδοχή των γνωμών του συγγραφέα».

N. 5343/1932, άρθρο 202, παράγραφος 2

Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ

 ΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ, ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ
 ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝ
 ΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ, ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙ
 ΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ
 ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ ΗΓΗΣΑΣΘ
 ΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗ
 Ν ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΑΣΘΑΙ, Κ
 ΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ, Κ
 ΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΑΥΤΕΟΥ ΑΔΕΛΦΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝ
 ΕΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ, ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ,
 ΗΝ ΧΡΗΖΟΥΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥ
 ΓΓΡΑΦΗΣ, ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ
 ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣ
 ΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝ
 ΤΟΣ, ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΣΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΛΟΓ
 ΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ, ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ, ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ
 ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟ
 ΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗ
 ΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗ, ΕΙΡΪΕΙΝ, ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ
 ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ, ΟΥΔΕΥ
 ΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥ
 ΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ, ΑΓΝΩΣ Δ
 Ε ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝ
 ΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ, ΟΥ ΤΕΜΕΛ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘ
 ΙΩΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙ ΠΡ
 ΗΪΟΣ ΤΗΣΔΕ, ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΩ,
 ΕΞΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤ
 ΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ,
 ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥ
 ΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡ
 ΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ, ΑΔ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ,
 Η ΙΔΩ, Η ΑΚΟΥΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΗΤΗΣ ΚΑΤΑ Β
 ΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Δ ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ
 ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟ
 ΙΑΥΤΑ, ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕ
 Δ ΠΟΙΕΟΝΤΙ, ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ, ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘ
 ΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ, ΠΑΡΑ Π
 ΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΔΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙ
 ΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ, ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΣΩ.



Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΗ**(μετάφραση)**

Ορκίζομαι στο θεό Απόλλωνα τον ιατρό και στο θεό Ασκληπιό και στην Υγεία και στην Πανάκεια και επικαλούμενος τη μαρτυρία όλων των θεών ότι θα εκτελέσω κατά τη δύναμη και την κρίση μου τον όρκο αυτόν και τη συμφωνία αυτή. Να θεωρώ τον διδάσκαλό μου της ιατρικής τέχνης ίσο με τους γονείς μου και την κοινωνό του βίου μου. Και όταν χρειάζεται χρήματα να μοιράζομαι μαζί του τα δικά μου. Να θεωρώ την οικογένειά του αδέρφια μου και να τους διδάσκω αυτήν την τέχνη αν θέλουν να την μάθουν χωρίς δίδακτρα ή άλλη συμφωνία. Να μεταδίδω τους κανόνες ηθικής, την προφορική διδασκαλία και όλες τις άλλες ιατρικές γνώσεις στους γιους μου, στους γιους του δασκάλου μου και στους εγγεγραμμένους μαθητές που πήραν τον ιατρικό όρκο, αλλά σε κανέναν άλλο. Θα χρησιμοποιώ τη θεραπεία για να βοηθήσω τους ασθενείς κατά τη δύναμη και την κρίση μου, αλλά ποτέ για να βλάψω ή να αδικήσω. Ούτε θα δίνω θανατηφόρο φάρμακο σε κάποιον που θα μου το ζητήσει, ούτε θα του κάνω μια τέτοια υπόδειξη. Παρομοίως, δεν θα εμπιστευτώ σε έγκυο μέσο που προκαλεί έκτρωση. Θα διατηρώ αγνή και άσπιλη και τη ζωή και την τέχνη μου. Δεν θα χρησιμοποιώ νυστέρι ούτε σε αυτούς που πάσχουν από λιθίαση, αλλά θα παραχωρώ την εργασία αυτή στους ειδικούς της τέχνης. Σε όσα σπίτια πηγαίνω, θα μπαίνω για να βοηθήσω τους ασθενείς και θα απέχω από οποιαδήποτε εσκεμμένη βλάβη και φθορά, και ιδίως από γενετήσιες πράξεις με άνδρες και γυναίκες, ελεύθερους και δούλους. Και όσα τυχόν βλέπω ή ακούω κατά τη διάρκεια της θεραπείας ή και πέρα από τις επαγγελματικές μου ασχολίες στην καθημερινή μου ζωή, αυτά που δεν πρέπει να μαθευτούν παραέξω δεν θα τα κοινοποιώ, θεωρώντας τα θέματα αυτά μυστικά. Αν τηρώ τον όρκο αυτό και δεν τον παραβώ, ας χαίρω πάντοτε υπολήψεως ανάμεσα στους ανθρώπους για τη ζωή και για την τέχνη μου. Αν όμως τον παραβώ και επιορκήσω, ας πάθω τα αντίθετα.

Αφιερώνεται

στη γυναίκα μου Χριστίνα,

*που χωρίς τη συνεχή και ουσιαστική στήριξή της
τίποτα από όλα όσα περιγράφονται στην μελέτη
αυτή δεν θα μπορούσαν να πραγματοποιηθούν*

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑσελίδα

Πρόλογος	12
-----------------	-----------

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Ιστορική αναδρομή	18
2. Ανευρύσματα ανιούσας θωρακικής αορτής	21
2.1 Ανευρύσματα θωρακικής αορτής - Εισαγωγή	21
2.2 Η φυσιολογική αορτή	21
2.3 Ορισμοί και ανατομικές δομές	26
2.4 Αορτικός διαχωρισμός και θωρακοκοιλιακά ανευρύσματα	30
2.5 Ανευρύσματα ανιούσας θωρακικής αορτής	32
2.6 Επιδημιολογία των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής	35
2.7 Κλινική εικόνα και συμπτώματα των ανευρυσμάτων	36
2.8 Φυσική εξέταση των ανευρυσμάτων	38
2.9 Απεικονιστικές εξετάσεις των ανευρυσμάτων	38
2.10 Διαφορική διάγνωση των ανευρυσμάτων	45
2.11 Φαρμακευτική θεραπεία των χρόνιων ανευρυσμάτων	46
2.12 Χειρουργική θεραπεία των ανευρυσμάτων	48
2.13 Σε ποιο μέγεθος παθαίνει ρήξη ή διαχωρισμό η θωρακική αορτή;	50
2.14 Τι προκαλεί ανεύρυσμα της θωρακικής αορτής;	58
2.15 Μηχανικές ιδιότητες της θωρακικής αορτής	64
2.16 Σύγχρονες (2013) κατευθυντήριες οδηγίες για τα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής	67
2.17 Μελλοντικές προοπτικές	75
3. Αορτή και κολλαγόνο	78
3.1 Θεμέλια εξωκυττάρια ουσία και κολλαγόνο	78
3.2 Ταξινόμηση των γνωστών μορφών κολλαγόνου	78
3.3 Τύποι κολλαγόνων που έχουν την ικανότητα να σχηματίζουν ινίδια	80
3.4 Ο ρόλος των ελασσόνων κολλαγόνων της οικογένειας V/XI	84
3.5 Ισομορφές του κολλαγόνου τύπου XI-α1	89

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Σκοπός της μελέτης	96
2. Υλικό και μέθοδοι	98
2.1 Κλινικά δεδομένα και αορτικά δείγματα	98
2.2 Ιστολογία – ανοσοφθορισμός – ανοσοϊστοχημεία – Ηλεκτρονική μικροσκοπηση	98
2.3 Ποσοτική αντίδραση αντίστροφης μεταγραφάσης αλυσωτής αντίδρασης πολυμεράσης (real-time qRT-PCR)	99
2.4 Ανάλυση σύμφωνα με τη μέθοδο Western blotting	101
2.5 Στατιστική ανάλυση	101
2.6 Σχεδιασμός δεύτερου μέρους της μελέτης	102
2.7 Δείγματα αορτής και χαρακτηριστικά ασθενών	102
2.8 Πρωτεομική ανάλυση	104
2.9 Ανάλυση ποιότητας των πρωτεομικών δεδομένων χωρίς επιτήρηση	104
2.10 Ανάλυση πρωτεομικών δεδομένων με επιτήρηση	105
2.11 Ανάλυση Western blotting	105
2.12 Απομόνωση RNA στο περιφερικό αίμα	105
2.13 Ανάλυση real-time qRT-PCR	106
2.14 Στατιστική ανάλυση	107
3. Αποτελέσματα	109
3.1 Αορτικά δείγματα και δημογραφικά χαρακτηριστικά ασθενών	109
3.2 Ιστολογική ανάλυση, ανάλυση ανοσοφθορισμού, ανοσοϊστοχημείας και ηλεκτρονικής μικροσκοπησης	110
3.3 Ανάλυση qRT-PCR	115
3.4 Ανάλυση Western Blotting	117
3.5 Ανάλυση συσχέτισης κατά Spearman	119
3.6 Δείγματα ανιούσας θωρακικής αορτής για πρωτεομική ανάλυση	121
3.7 Πρωτεομική ανάλυση	121
3.8 Λειτουργική ανάλυση εμπλουτισμού	127
3.9 Ανάλυση μοριακών μονοπατιών	129
3.10 Ανάλυση real time qRT-PCR	131
4. Συζήτηση	136
4.1 Συζήτηση πρώτου μέρους της μελέτης	136
4.2 Συζήτηση δεύτερου μέρους της μελέτης	141
5. Περίληψη	145
5. Abstract	147
Βιβλιογραφία	149
Βιογραφικό σημείωμα	169

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Τα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής αποτελούν μία ύπουλη νόσο επειδή στη συντριπτική τους πλειοψηφία εξελίσσονται ασυμπτωματικά με τελικό αποτέλεσμα το πρώτο σύμπτωμα, δηλαδή η ρήξη ή ο οξύς διαχωρισμός της θωρακικής αορτής, να είναι συνήθως και το τελευταίο. Παρά τη σημαντική πρόοδο που έχει επιτευχθεί κατά τις τελευταίες δεκαετίες στη χειρουργική αντιμετώπιση των ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής, με συνέπεια η εκλεκτική χειρουργική αντιμετώπισή τους να μπορεί να διενεργείται με μεγάλη ασφάλεια και πολύ μικρά ποσοστά επιπλοκών και νοσοκομειακής θνητότητας, εντούτοις η έγκαιρη διάγνωση αυτών των ανευρυσμάτων στηρίζεται εν πολλοίς στην τύχη βασισμένη στην πραγματοποίηση διαγνωστικών εξετάσεων που γίνονται για άλλα νοσήματα. Επίσης, πέραν των απεικονιστικών μεθόδων διάγνωσης δεν υπάρχουν μέχρι σήμερα αιματολογικές εξετάσεις που να μπορούν να θέσουν την υποψία, πόσο μάλλον δε τη διάγνωση, των ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής. Σε επίπεδο φαρμακευτικής αγωγής δεν έχει βρεθεί ακόμα κάποια θεραπεία που να εμποδίζει την ανάπτυξη ανευρυσμάτων στην ανιούσα θωρακική αορτή ασθενών με πολλούς παράγοντες κινδύνου εμφάνισης της νόσου, αλλά ούτε υπάρχει ακόμα αποτελεσματική φαρμακευτική θεραπεία που να εμποδίζει ολοκληρωτικά τη συνέχιση της αύξησης της διαμέτρου του ανευρύσματος όταν αυτό διαγνωστεί σε αρχικά στάδια.

Όλα τα παραπάνω δεδομένα σε συνδυασμό με τη συνεχή αύξηση του προσδόκιμου επιβίωσης κατά τα τελευταία χρόνια, η οποία αναμένεται να αυξήσει ακόμα περισσότερο τα περιστατικά των σποραδικών ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής, επειδή η νόσος αυτή εμφανίζεται στις μεγάλες ηλικίες, τονίζουν με τον πιο emphaticό τρόπο την ανάγκη για διενέργεια βασικής έρευνας στα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής. Απώτερος σκοπός αυτής της έρευνας είναι η απόκτηση γνώσεων πάνω στους μοριακούς μηχανισμούς που συντελούν στην εμφάνιση αυτών των ανευρυσμάτων, γεγονός που θα ανοίξει νέους ορίζοντες για την ανάπτυξη αξιόπιστων και μη επιβαρυντικών για την υγεία διαγνωστικών εξετάσεων, αλλά και για την ανάπτυξη πιο αποτελεσματικών φαρμακευτικών παρεμβάσεων μέσω της ανάδειξης νέων μοριακών στόχων σε σημεία που ελέγχουν τους μηχανισμούς δημιουργίας και επέκτασης των ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής. Σ' αυτά ακριβώς τα σημεία εστιάζει και η παρούσα διδακτορική διατριβή, δίνοντας μεγάλη βαρύτητα στη

διερεύνηση των αλλαγών που γίνονται στους διάφορους τύπους κολλαγόνου στο τοίχωμα της αορτής.

Το κολλαγόνο είναι η πρωτεΐνη που βρίσκεται σε μεγαλύτερο ποσοστό στο ανθρώπινο σώμα. Οι ιδιότητες του κολλαγόνου έχουν μελετηθεί σε μεγάλο βαθμό κατά τις περασμένες δεκαετίες. Παρόλα αυτά, ακόμα και σήμερα συνεχίζουν να ανακαλύπτονται διαφορετικοί τύποι κολλαγόνου που επιτελούν πολύ συγκεκριμένες λειτουργίες. Ένα από τα πολύ σημαντικά και μη αναμενόμενα ευρήματα πρόσφατα, αποτελεί το γεγονός ότι οι διάφοροι τύποι κολλαγόνων δεν έχουν μόνο δομική λειτουργία, αλλά επιτελούν κι άλλους πολύπλοκους ρόλους συμμετέχοντας στη λήψη και αποστολή μοριακών σημάτων μέσα στο πολυσύνθετο σύνολο της θεμέλιας εξωκυττάριας ουσίας. Έχοντας κατά νου και αυτή την πολύ σημαντική πληροφορία, επιχειρείται στην παρούσα διδακτορική διατριβή η σύνδεση των ευρημάτων των αλλαγών στα επίπεδα έκφρασης των τύπων κολλαγόνου που έχουν την ικανότητα να σχηματίζουν ινίδια με μοριακά μονοπάτια τα οποία μπορεί να εμπλέκονται στους πολύπλοκους μηχανισμούς της δημιουργίας των ανευρυσμάτων τη ανιούσας θωρακικής αορτής. Τέλος, σε μία προσπάθεια αναγωγής των αλλαγών στην πρωτεϊνική έκφραση που σημειώνεται σε επίπεδο ιστού, σε αναλύσεις στο περιφερικό αίμα, γίνεται μία πρώτη προσπάθεια για την ανεύρεση βιοδεικτών που θα μπορούσαν με μία απλή εξέταση αίματος να θέσουν την υποψία ή τη διάγνωση του ανευρύσματος της ανιούσας θωρακικής αορτής.

Στο σημείο αυτό θα ήθελα να εκφράσω τις θερμότερες ευχαριστίες μου:

Στον κ. Ιωάννη Ρίζο, Αναπληρωτή Καθηγητή Καρδιολογίας, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, για το μεγάλο ενδιαφέρον, τις πολύτιμες συμβουλές και τη μοναδική βοήθειά του προκειμένου να χρηματοδοτηθεί η παρούσα έρευνα στα πλαίσια του ερευνητικού προγράμματος «ΗΡΑΚΛΕΙΤΟΣ II».

Στον κ. Κωνσταντίνο Αναγνωστόπουλο, Ομότιμο Καθηγητή Καρδιοχειρουργικής, για την κλινική εμπειρία που είχα την ευκαιρία να αποκτήσω δίπλα του σε χειρουργικές επεμβάσεις αντικατάστασης ανευρυσμάτων ανιούσας αορτής, από τις οποίες και συλλέχθηκαν οι ιστοί που αναλύθηκαν στην παρούσα μελέτη.

Τέλος, στον κ. James McCully, Αναπληρωτή Καθηγητή Καρδιοχειρουργικής Έρευνας στο Beth Israel Deaconess Medical Center in Boston, MA, για τη δυνατότητα

να συνεργαστώ μαζί του στο εργαστήριό του και να αποκτήσω βασικές γνώσεις σε μεθόδους σύγχρονης μοριακής βιολογίας, τις οποίες εφάρμοσα με επιτυχία στην παρούσα διδακτορική διατριβή.

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Γενικά οι παθήσεις της αορτής δεν έχουν προσελκύσει το ενδιαφέρον πολλών επιστημόνων και ο λόγος είναι ο ρόλος που έχει η αορτή, ο οποίος συνίσταται ουσιαστικά στο ότι δεν είναι τίποτα περισσότερο από ένα μεγάλο σωλήνα που παρέχει αίμα στα διάφορα όργανα. Έτσι η αορτή δεν έχει τύχει του ενδιαφέροντος που έχουν όργανα όπως η καρδιά κι ο εγκέφαλος ενώ δεν θεωρείται ένα ξεχωριστό όργανο όπως οι πνεύμονες, το ήπαρ κι οι νεφροί με συγκεκριμένες και πολύπλοκες λειτουργίες. Επίσης οι παθήσεις της αορτής αποτελούν μία σχετικά σπάνια αιτία θανάτου.¹

Στα νεώτερα χρόνια μία αύξηση του ενδιαφέροντος για τις παθήσεις της αορτής αποδίδεται στο θάνατο ορισμένων διάσημων προσώπων. Για παράδειγμα μπορεί να αναφερθεί ο θάνατος του Albert Einstein, ο οποίος πέθανε από τη ρήξη ενός ανευρύσματος της κοιλιακής αορτής.² Αρχικά είχε χειρουργηθεί γι' αυτό το ανεύρυσμα με τη μέθοδο του περιτυλίγματος του ανευρύσματος με σελοφάν. Λέγεται ότι ο διάσημος χειρουργός Michael DeBakey του είχε προτείνει να τον χειρουργήσει, αλλά ο Einstein αρνήθηκε το δεύτερο χειρουργείο λέγοντας «Θέλω να φύγω όταν το επιθυμώ. Είναι άσχημο να επιμηκύνουμε τη ζωή με τεχνικά μέσα. Έχω ολοκληρώσει τη συνεισφορά μου. Είναι πλέον ώρα να φύγω. Θα το κάνω καλαίσθητα». Τελικά το ανεύρυσμα έπαθε ρήξη, η οποία διαγνώστηκε αρχικά ως οξεία χολοκυστίτιδα (και αυτή η διάγνωση αναφέρεται ως «σημείο του Einstein»)³.

Μελέτες στις αιγυπτιακές μούμιες έχουν δείξει ότι η αθηροσκλήρυνση και η ασβέστωση των αρτηριών ήταν σχετικά συχνή εδώ και 3500 χρόνια. Η διάταση των αρτηριών ήταν γνωστή από την αρχαιότητα και ο πάπυρος Ebers, η αρχαιότερη ιατρική γραπτή πηγή (2000 π.Χ.), αναφέρει ότι αυτές πρέπει να θεραπεύονται με μαχαίρι και μετά να καυτηριάζονται ώστε να αποφευχθεί η αιμορραγία.⁴ Ο Έλληνας ιατρός Γαληνός (131-200 μ.Χ) ήταν ο πρώτος που ανέφερε τον όρο ανεύρυσμα: «όταν οι αρτηρίες διατείνονται, τότε η νόσος ονομάζεται ανεύρυσμα». Επίσης, ο Έλληνας χαρismaticός χειρουργός Άντυλος (2^{ος} αιώνας μ.Χ.) διέκρινε τα ανευρύσματα σ' αυτά που οφείλονται σε τραύματα και σ' αυτά που οφείλονται σε εκφυλιστικές αλλοιώσεις. Πολλούς αιώνες αργότερα ο Andreas Vesalius (1514-1564) ήταν ο πρώτος που περιέγραψε τα ανευρύσματα της θωρακικής και της κοιλιακής αορτής.⁴⁻⁶

Τα ανευρύσματα της θωρακικής αορτής αποτελούσαν πάντα μία πρόκληση για τους χειρουργούς και μόνο κατά τα τελευταία 50 χρόνια σημειώθηκε αρκετή πρόοδος

ώστε να μπορούν να αντιμετωπιστούν με επιτυχία. Η πρώτη επιτυχημένη αντικατάσταση ανευρύσματος της κατιούσας θωρακικής αορτής με μόσχευμα έγινε το 1951 από τους Lam και Agam.⁷ Ο αποκλεισμός της αορτής είχε διάρκεια 24 λεπτά και ο ασθενής εμφάνισε μερική παραπληγία. Αυτή η επέμβαση δεν είναι μόνο η πρώτη αντικατάσταση ανευρύσματος της κατιούσας θωρακικής αορτής, αλλά και η πρώτη επέμβαση που κάνει χρήση μόνιμου μοσχεύματος, καθώς και η πρώτη επέμβαση που αναφέρει ως επιπλοκή την παραπληγία.

Όσον αφορά στη συνέχεια της ιστορικής αναδρομής των επεμβάσεων στη θωρακική αορτή οι DeBakey και Cooley ανέφεραν την πρώτη περίπτωση επιτυχημένης αντικατάστασης ατρακτοειδούς ανευρύσματος της θωρακικής αορτής με μόσχευμα το 1953.⁸ Η πρώτη επιτυχημένη αντικατάσταση θωρακοκοιλιακού ανευρύσματος (τύπου IV) έγινε από τους Etheredge και συνεργάτες το 1954 με τη χρήση ενός ομόλογου μοσχεύματος.⁹ Το 1956 οι Cooley και DeBakey πραγματοποίησαν αντικατάσταση της ανιούσας θωρακικής αορτής με ομόλογο μόσχευμα κάνοντας χρήση καρδιοαναπνευστικής παράκαμψης.¹⁰ Το 1958 ο DeBakey περιέγραψε τη χρήση του ευέλικτου πλεκτού μοσχεύματος Dacron.¹¹ Το 1965 ο Crawford αντικατέστησε ολόκληρη τη θωρακοκοιλιακή αορτή σε έναν 55-χρονο άνδρα. Οι Crawford και συνεργάτες ήταν οι πρώτοι που ανακοίνωσαν μια μεγάλη σειρά 138 επεμβάσεων για αντικατάσταση θωρακοκοιλιακών ανευρυσμάτων το 1980, με ένα ποσοστό παραπληγίας 9%.¹² Το 1984 ο Crawford ανακοίνωσε αντικατάσταση ολόκληρης της αορτής με πολλαπλές διαδοχικές επεμβάσεις.¹³ Το 1990 οι Crawford και συνεργάτες ανακοίνωσαν τη σταδιακή αντικατάσταση ολόκληρης της αορτής,¹⁴ ενώ το 1993 οι Svensson και συνεργάτες αντικατέστησαν επιτυχώς την αορτή από την αορτική βαλβίδα έως τον διχασμό στις κοινές λαγόνιες με τη χρήση σωληνωτού μοσχεύματος σε μία επέμβαση κάνοντας χρήση βαθιάς υποθερμίας και ολικής κυκλοφορικής παύσης.¹⁵

Παρά τη μεγάλη πρόοδο στη χειρουργική αντιμετώπιση των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής κατά τις τελευταίες δεκαετίες, μικρή πρόοδος έχει σημειωθεί προς την κατεύθυνση της διαλεύκανσης των μοριακών μηχανισμών που ευθύνονται για την ανάπτυξη των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής. Μεγαλύτερη πρόοδος έχει σημειωθεί στη γνώση των παθοφυσιολογικών μηχανισμών που προκαλούν ανευρύσματα της κοιλιακής αορτής, εντούτοις είναι πλέον αποδεδειγμένο ότι η θωρακική αορτή και τα ανευρύσματα αυτής αποτελούν μία κατ' ουσία εντελώς

διαφορετική νόσο από τα ανευρύσματα της κοιλιακής αορτής, γεγονός που οφείλεται κυρίως στις μεγάλες δομικές ιστολογικές διαφορές μεταξύ θωρακικής και κοιλιακής αορτής. Η προσπάθεια να εξηγηθούν τα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής με τους μηχανισμούς και τα χαρακτηριστικά που ισχύουν για τα ανευρύσματα της κοιλιακής αορτής δεν έχει ουσιαστικά καμία δυνατότητα να αποδώσει αξιόπιστα αποτελέσματα και συνεπώς υπάρχει μεγάλη ανάγκη για βασική έρευνα στα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής. Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι η εφαρμογή σύγχρονων μεθόδων μοριακής βιολογίας στα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής με απώτερο αποτέλεσμα την αποκάλυψη μοριακών μηχανισμών που συντελούν στη δημιουργία ανευρυσμάτων σ' αυτό το ιδιαίτερο τμήμα της θωρακικής αορτής, γεγονός που θα μπορούσε να ανοίξει νέους ορίζοντες για την ανάπτυξη λιγότερο επιβαρυντικών για την υγεία διαγνωστικών εξετάσεων καθώς και για την έρευνα με σκοπό την ανάπτυξη νέων πιο αποτελεσματικών φαρμακευτικών μεθόδων αντιμετώπισης των σποραδικών ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής.

2. ΑΝΕΥΡΥΣΜΑΤΑ ΑΝΙΟΥΣΑΣ ΘΩΡΑΚΙΚΗΣ ΑΟΡΤΗΣ

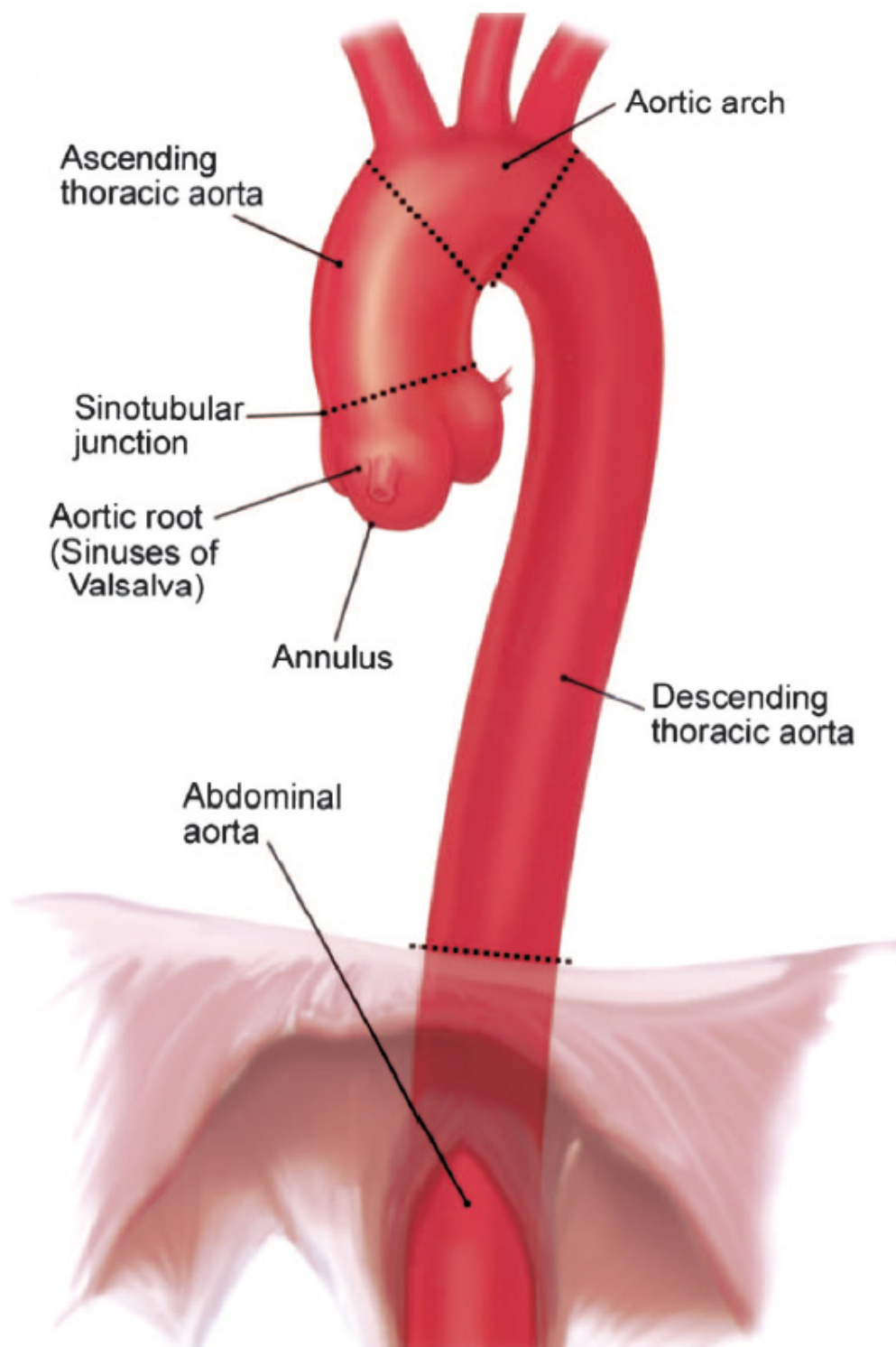
2.1 Ανευρύσματα θωρακικής αορτής - Εισαγωγή

Τα κύρια συμβάματα των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής είναι ο διαχωρισμός και η ρήξη. Μία προσεκτική μελέτη στην κλινική συμπεριφορά αυτών των ανευρυσμάτων έχει ήδη αποκαλύψει πολλές λεπτομέρειες σχετικά με το πότε, πως και γιατί καταλήγουν στο διαχωρισμό και τη ρήξη. Παρακάτω αναλύονται μερικές θεμελιώδεις αρχές σχετικά με το φυσιολογικό ρόλο της αορτής, τη φυσιολογική δομή της, τις ανατομικές μορφές της ανευρυσματικής νόσου, θεμελιώδεις ορισμοί και επιδημιολογικά στοιχεία της ανευρυσματικής νόσου της θωρακικής αορτής. Μετά τη διεξοδική ανάλυση αυτών των στοιχείων θα αναλυθούν τα ειδικά χαρακτηριστικά των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής.

2.2 Η φυσιολογική αορτή

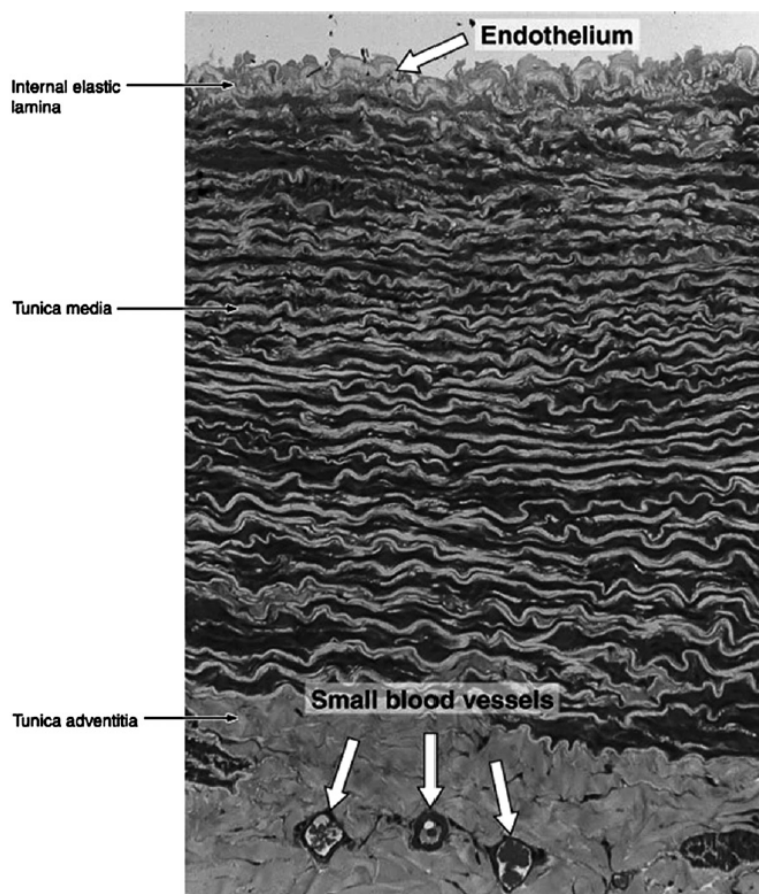
Ο όρος αορτή είναι ελληνική λέξη και προέρχεται από τη λέξη αορτίρ, η οποία αναφέρεται στη ζώνη του ώμου.¹⁶ Ο όρος αυτός χρησιμοποιήθηκε για να περιγράψει την αορτή εξαιτίας του σχήματός της (εικόνα 2-1). Είναι πολύ εύκολο και απλοϊκό να παρουσιαστεί η φυσιολογική αορτή ως ένας απλός σωλήνας ο οποίος μεταφέρει αίμα από την καρδιά σε όλα τα όργανα του σώματος. Στην πραγματικότητα όμως η αορτή αποτελεί κάτι πολύ περισσότερο από ένα σωλήνα. Σύμφωνα με τα σύγχρονα δεδομένα η αορτή αποτελεί, και έτσι πρέπει να θεωρείται, ένα αυτοτελές όργανο με τη δική του πολύπλοκη ιδιαίτερη βιολογία και εξεζητημένες μηχανικές ιδιότητες.¹⁷⁻²¹ Στην πραγματικότητα, η αορτή συνεργάζεται με την αριστερή κοιλία της καρδιάς ώστε να καθορίσει τον όγκο παλμού. Η χάλαση και η σύσπαση της αορτής αυξάνει την αιμοδυναμική λειτουργία της αριστερής κοιλίας της καρδιάς.

Εικόνα 2-1. Απεικονίζεται η αορτή με τα διάφορα τμήματά της και φαίνεται το σχήμα της το οποίο μοιάζει με ζώνη ώμου.



Η αορτή αποτελείται από τρεις χιτώνες: τον έσω, τον μεγαλύτερο μέσο και τον έξω χιτώνα (εικόνα 2-2). Ο έσω χιτώνας αποτελείται από ένα μονό στρώμα ενδοθηλιακών κυττάρων που εδράζονται στη βασική μεμβράνη που αποτελεί το έσω ελαστικό πέταλο. Ο μέσος χιτώνας αποτελεί το παχύτερο στρώμα του αορτικού τοιχώματος και η βασική του μονάδα είναι η ελαστική μονάδα, η οποία αποτελείται από 2 ελαστικά πέταλα τα οποία περικλείουν με τη μορφή σάντουιτς λεία μυϊκά κύτταρα, κολλαγόνο και άμορφη θεμέλια ουσία (εικόνες 2-3 και 2-4). Η θωρακική αορτή έχει περίπου πάχος 76 τέτοιων ελαστικών μονάδων σε αντιδιαστολή με την κοιλιακή αορτή η οποία έχει πάχος 32 περίπου τέτοιων ελαστικών μονάδων (εικόνα 2-5). Ο λεπτός έξω χιτώνας αποτελείται σε μεγάλο ποσοστό από ίνες κολλαγόνου και στους χειρουργούς είναι γνωστός ως ο χιτώνας που χαρακτηρίζει και καθορίζει τη δύναμη και την αντοχή της αορτής, δεδομένου ότι αποτελεί σχεδόν πάντα το στρώμα της αορτής που θα κρατήσει τα ράμματα κατά τη διενέργεια αναστομώνσεων.²²⁻²⁷

Εικόνα 2-2. Απεικονίζονται οι τρεις χιτώνες της αορτής.



Εικόνα 2-3. Η ελαστική μονάδα της αορτής.

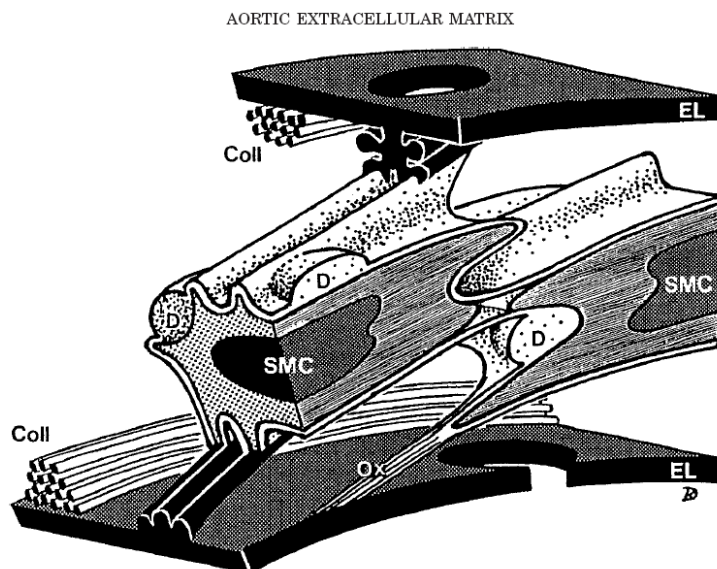


Fig. 9. Simplified, schematic representation of two smooth muscle cells (SMC) and two elastic lamellae (EL) with their interconnections. Both elastic lamellae represented have large, round fenestrations. Thick collagen fibers (Coll) are closely associated with elastic lamellae. Longitudinal surface ridges (but not main cell body) of left smooth muscle cell is connected to both lamellae via long, thin elastin protrusions. For sake of clearness, these protrusions have been depicted far more regular and solid than they appear in reality in human material. Right smooth muscle

cell is connected to lower elastic lamella via oxytalan fiber (Ox) that contains fibrillin and type VI collagen (and, especially near smooth muscle cell, also some fibronectin). Thin, fibronectin-positive basal lamina-like layer covers most of cell surface and, in addition, bridges gap between cells. Next to basal lamina-like layers, larger deposits (D) containing type IV collagen and heparan sulfate proteoglycan are found especially at indentations of cell surface.

Εικόνα 2-4. Απεικονίζεται η δομή του αορτικού τοιχώματος.

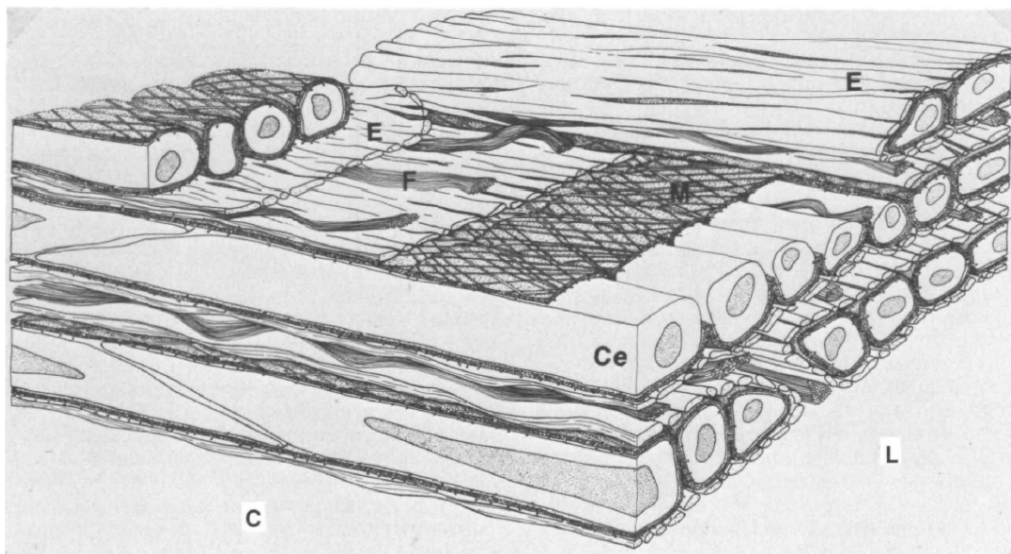


Figure 11. Representation of the organization of cells and matrix fibers in mammalian aortas

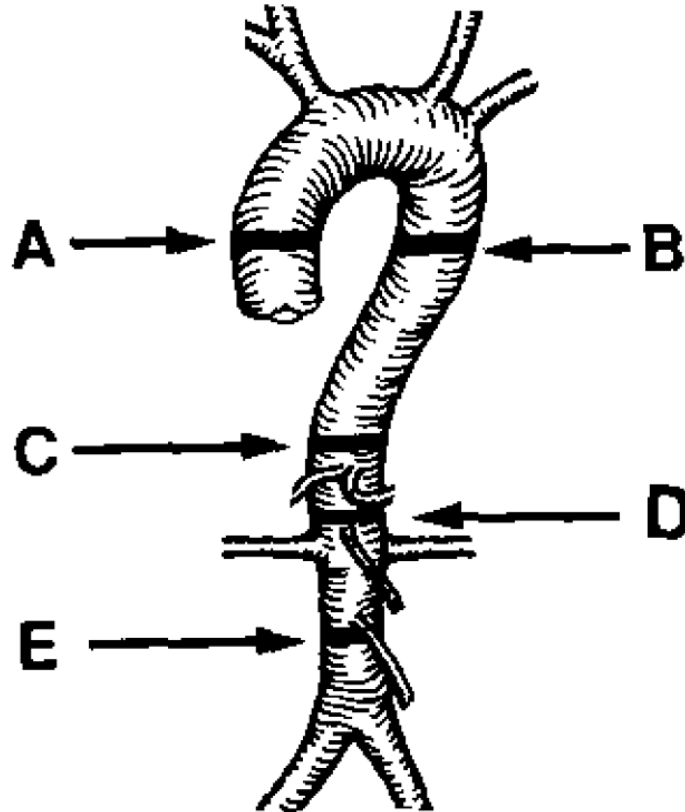
C indicates the transverse (circumferential) plane of section, while L indicates the longitudinal or axial plane. Cell surface projections and other details of cell-to-elastin attachments have been omitted for clarity. Each organizational subunit (musculo-elastic fascicle) consists of a group of commonly oriented cells (Ce), invested by a matrix mat (M) consisting of basal lamina and a fine meshwork of collagen fibrils, and surrounded by a closely associated system of elastic fibers (E) oriented in the same direction as the long axes of the component cells. Wavy collagen bundles (F) course between the successive facing elastic fiber systems within the fibrous zones. In the aorta the fascicles form well defined layers in transverse planes of section. The close proximity of the individual musculo-elastic fascicles within each cell layer gives the impression of extensive, continuous elastic lamellae between cell layers.

Εικόνα 2-5. Απεικονίζονται οι διαφορές στον αριθμό και στο πάχος των ελαστικών μονάδων στα διάφορα τμήματα της αορτής.

TABLE 3
Number of Elastin Lamellar Units and Vascular Layer Thicknesses

Ring	Lamellae	Intima (mm)	Media (mm)	Adventitia (mm)
A	80 ± 4	0.08 ± 0.03	1.41 ± 0.09	0.32 ± 0.06
B	76 ± 4	0.15 ± 0.02	1.00 ± 0.14	0.37 ± 0.14
C	57 ± 3	0.24 ± 0.08	0.92 ± 0.05	0.35 ± 0.05
D	49 ± 2	0.33 ± 0.01	0.81 ± 0.08	0.43 ± 0.03
E	32 ± 4	0.64 ± 0.24	0.64 ± 0.18	0.45 ± 0.01

Note. Mean values $\pm$ SEM.



Οι ελαστικές ίνες του αορτικού τοιχώματος μπορούν να διατείνονται και συνεπώς είναι αυτές που καθορίζουν τη διατασιμότητά της. Αυτή η ικανότητα χάλασης και σύσπασης της αορτής είναι αυτή που επιτρέπει στην αορτή να επιτελεί το έργο της αύξησης της αρτηριακής πίεσης και μ' αυτόν τον τρόπο να ενισχύει τη μηχανική λειτουργία της καρδιάς, καθώς η ελαστική επαναφορά της αορτής διατηρεί την αορτική πίεση κατά τη διαστολή. Από την άλλη πλευρά το κολλαγόνο είναι σχετικά ανελαστικό και σ' αυτό οφείλεται η αντοχή της αορτής στις δυνάμεις διατμητικής τάσης και συνεπώς είναι απαραίτητο για να αποτρέπει την παραμόρφωση του αορτικού τοιχώματος και κατ' επέκταση τη ρήξη του.

2.3 Ορισμοί και ανατομικές δομές

Ο όρος ανεύρυσμα αναφέρεται σε μία υπερβολική αύξηση του μεγέθους/διαμέτρου της αορτής. Για τα μεγάλα ανευρύσματα, είναι εύκολα εμφανές ότι η αορτή έχει ξεπεράσει κατά πολύ τα όρια της φυσιολογικής δομής της. Από την άλλη πλευρά τα ανευρύσματα θα πρέπει να διακρίνονται από την εκτασία, η οποία συνήθως αναφέρεται σε ελικοειδή πορεία της αορτής η οποία ξεπερνά τα φυσιολογικά της όρια, κατάσταση η οποία αντανακλά την ανάγκη της αορτής, η οποία μακραίνει με την ηλικία, να κυρτώνεται και να κάμπτεται. Αν και το φυσιολογικό μέγεθος της αορτής ποικίλει ανάλογα με το φύλο και το μέγεθος του σώματος, οι περισσότεροι θα συμφωνούσαν ότι μίας φυσιολογικής διαμέτρου αορτή δεν θα πρέπει να ξεπερνά τα 4.0cm. Για την φυσιολογικά μικρότερη κοιλιακή αορτή, ο όρος ανεύρυσμα είναι πιο αυστηρός και αναφέρεται σε περιπτώσεις όπου η διάμετρος της αορτής υπερβαίνει τα 3.0cm. Ένας πιο ακριβής ορισμός του ανευρύσματος αναφέρεται στο ότι η διάμετρος του προσβεβλημένου τμήματος της αορτής θα πρέπει να είναι το 150% της αναμενόμενης φυσιολογικής.^{17-21,28}

Η μεγάλη πλειοψηφία των ανευρυσμάτων που συναντώνται στην κλινική πράξη είναι κατά κανόνα αληθή ανευρύσματα, που σημαίνει ότι το τοίχωμα του ανευρύσματος αποτελείται από τα φυσιολογικά ιστολογικά στοιχεία της αορτής. Τα ψευδή ανευρύσματα, από την άλλη πλευρά στην ουσία αντιπροσωπεύουν περιορισμένες ρήξεις του αορτικού τοιχώματος, καθώς το τοίχωμα του ψευδοανευρύσματος δεν περιέχει τα φυσιολογικά ιστολογικά στοιχεία της αορτής, αλλά σ' αυτές τις περιπτώσεις

το τοίχωμα αποτελείται από μία ινώδη κάψα, η οποία έχει δημιουργηθεί από μία μικρή διάτρηση στην αορτή, η οποία αρχικά συγκρατήθηκε από την προσκόλληση γειτονικών ιστών και κατόπιν σταδιακά μεγάλωσε σε μέγεθος.

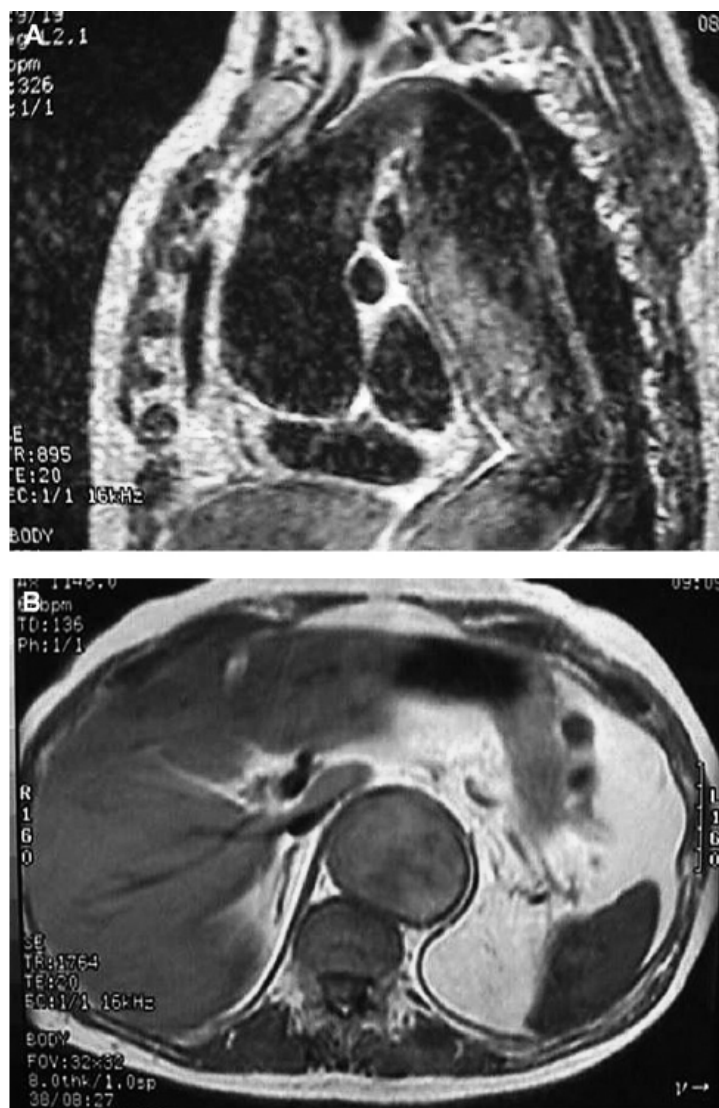
Τα ανευρύσματα μπορούν επίσης να ταξινομηθούν με βάση τη μορφολογία τους, την εντόπιση ή την αιτιολογία τους (πίνακας 2-1).²⁹ Μία αδρή μορφολογική ταξινόμηση ξεχωρίζει τα αληθή ανευρύσματα σε ατρακτοειδή και σακοειδή. Ένα ατρακτοειδές ανεύρυσμα είναι κατά κανόνα κυλινδρικό και αφορά στο σύνολο της περιμέτρου της αορτής, ενώ το σακοειδές ανεύρυσμα δημιουργεί ένα σάκο που εξορμάται από ένα τμήμα μόνο του αορτικού τοιχώματος και συχνά ένας μικρός λαιμός συνδέει τον αορτικό αυλό με το σακοειδές ανεύρυσμα. Τα ατρακτοειδή ανευρύσματα είναι πολύ πιο συχνά από τα σακοειδή.

Πίνακας 2-1. Αιτιολογική ταξινόμηση των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής.

Table 1. Etiology of thoracic aortic aneurysm	
Etiology	Details
Degenerative aneurysms	• Most common • Associated with hypertension, age, smoking
Atherosclerotic	• More commonly involves the descending aorta and arch
Genetically triggered aneurysm syndromes	
Marfan syndrome	• Most common inherited connective tissue disease • Mutation in <i>FBN-1</i> gene leads to decreased tensile strength of the aorta • Estimated that 75% of patients will have a dilated aortic root
Loeys-Dietz Syndrome	• Aggressive vasculopathy linked to TGFBR1 or 2 mutation • Early detection and intervention is important
Bicuspid aortic valve	• >50% have tubular/ascending aneurysm • 20% sinus of Valsalva involvement • Faster rate of growth than aneurysms associated with a three leaflet valve
Turners syndrome	• 1/3 with bicuspid valve and coarctation of the aorta • Ascending aortic aneurysm
Familial non-syndromic thoracic aortic aneurysm syndrome	• Dilated aorta • Absence of other connective tissue disease • Family history dissection/aneurysm
Aortitis	
Infectious	• Syphilis (historical) • Salmonella • Staphylococcal species • Mycobacterium
Non infections/inflammatory	• More common: ◦ Giant cell and Takayasu arteritis • Less common: ◦ Behcets, Cogans syndrome, relapsing polychondritis • Rare: ◦ Rheumatoid arthritis, spondyloarthropathies
Trauma	• Typical location is at the aortic isthmus • Complications include rupture, pseudoaneurysm, chronic dissection with secondary aneurysm formation
Chronic aortic dissection	• Aneurysm due to growth and pressure differential of false lumen

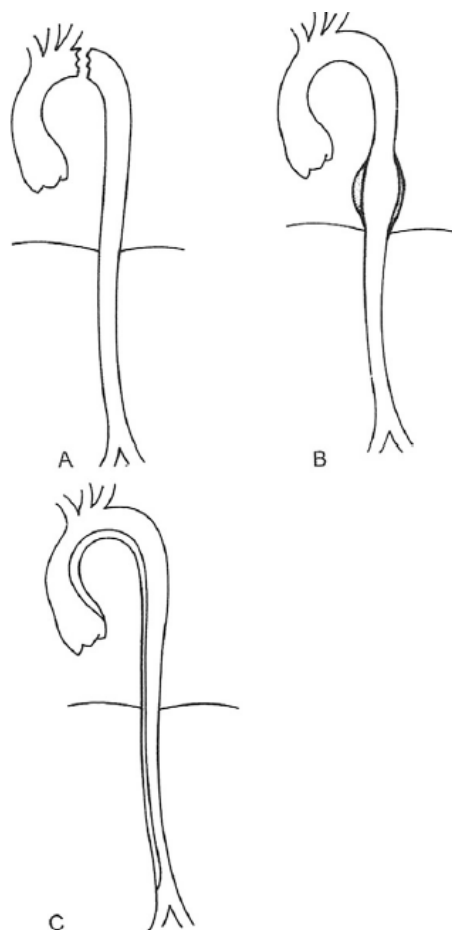
Τέλος, πέρα από τη γενική μορφολογία τους τα ανευρύσματα χαρακτηρίζονται και από το τμήμα της αορτής στο οποίο αναπτύσσονται και αναφέρονται ως θωρακικά, θωρακοκοιλιακά και κοιλιακά. Τα ανευρύσματα της ανιούσας αορτής ανήκουν στα θωρακικά ανευρύσματα. Αυτή η ταξινόμηση ανάλογα με το τμήμα της αορτής που προσβάλλεται διευκολύνει περισσότερο την κατανόηση της παθογένεσης, της κλινικής εικόνας, της φυσικής ιστορίας αλλά και της θεραπείας η οποία σε μεγάλο βαθμό καθορίζεται από την εντόπιση του ανευρύσματος. Υπάρχουν και σπάνιες περιπτώσεις ανευρυσμάτων όπου αυτά μπορεί να προσβάλλουν το σύνολο της αορτής (εικόνα 2-6).

Εικόνα 2-6. Απεικονίζονται όλα τα επιμέρους τμήματα της αορτής ανευρυσματικά.



Υπάρχουν τρεις κλινικές καταστάσεις που σχετίζονται με τα ανευρύσματα αλλά συχνά συγχέονται. Αυτές είναι η διατομή της αορτής, η ρήξη και ο διαχωρισμός της (εικόνα 2-7).²⁸ Η διατομή της αορτής αποτελεί αποτέλεσμα τραύματος με διάρρηξη του αορτικού τοιχώματος, χωρίς όμως να οδηγεί σε διαχωρισμό. Το αορτικό τοίχωμα σ' αυτές τις περιπτώσεις είναι φυσιολογικό και συνεπώς ανθεκτικό στην εμφάνιση διαχωρισμού. Η ρήξη του ανευρύσματος είναι μία έννοια κατανοητή και οι μόνες περιπτώσεις σύγχυσης είναι όταν μία διατομή της αορτής ή ένας διαχωρισμός της αορτής καταλήγει σε ρήξη αυτής, ένα φαινόμενο το οποίο είναι σχετικά συχνό. Ο οξύς διαχωρισμός της αορτής αναφέρεται στην πολύ ειδική περίπτωση που προκαλείται αποχωρισμός των χιτώνων του αορτικού τοιχώματος. Για να προκληθεί διαχωρισμός θα πρέπει σχεδόν πάντα να υπάρχει δομική νόσος στο μέσω χιτώνα της αορτής.

Εικόνα 2-7. A: Τραυματική διατομή της αορτής, B: Ανεύρυσμα θωρακικής αορτής, C: Αορτικός διαχωρισμός.

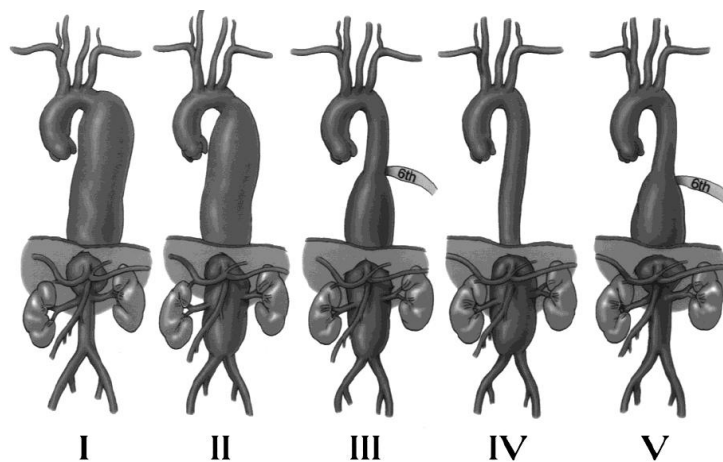


2.4 Αορτικός διαχωρισμός και θωρακοκοιλιακά ανευρύσματα

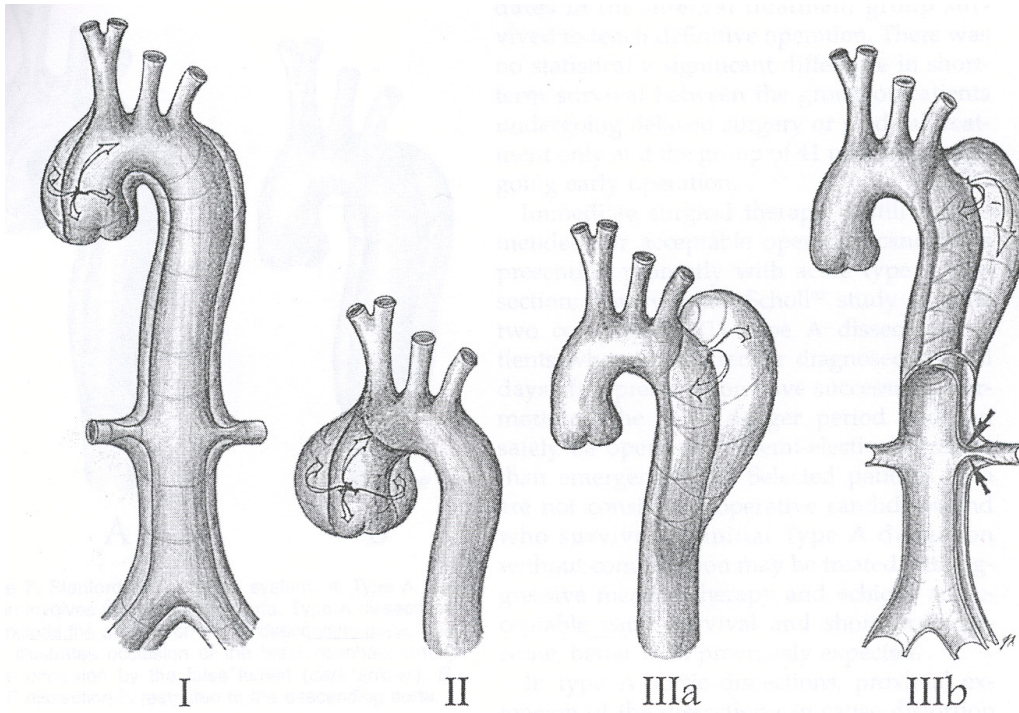
Ο όρος θωρακοκοιλιακό ανεύρυσμα χρησιμοποιείται στις περιπτώσεις που ένα ανεύρυσμα εκτείνεται σε διάφορα τμήματα της κατιούσας θωρακικής και κοιλιακής αορτής. Η κατάταξη των ανευρυσμάτων αυτών έγινε από τον Crawford (4 κατηγορίες) και τροποποιήθηκε από τον Safi (5 κατηγορίες, εικόνα 2-8).^{30,31} Σύμφωνα με την ταξινόμηση κατά Crawford ο τύπος I απαντάται στο 1/4 των περιπτώσεων, ο τύπος II σε περίπου 30% των περιπτώσεων, ο τύπος III σε λιγότερο από 1/4 των περιπτώσεων και ομοίως και ο τύπος IV.³²

Ως διαχωρισμός της αορτής ορίζεται η ρήξη του έσω χιτώνα της αορτής που δεν συνοδεύεται από ρήξη του έξω χιτώνα. Στον οξύ διαχωρισμό της αορτής οι χιτώνες του αορτικού τοιχώματος διχάζονται και δημιουργούν τον ψευδή αυλό που φέρεται παράλληλα με τον αληθή αυλό. Η πίεση του αίματος στην αορτή επιτείνει τον διαχωρισμό κατά μήκος αυτής. Ο διαχωρισμός του τοιχώματος της αορτής μπορεί σε μερικές περιπτώσεις να είναι μικρότερος από 1 mm σε πάχος, ενώ σε άλλες μπορεί να περιλαμβάνει όλη τη διάμετρο της αορτής με συνέπεια τον ολικό αποκλεισμό του αληθούς αυλού από τον ψευδή. Οι διαχωρισμοί κατατάσσονται ανάλογα με την περιοχή που βρίσκεται το σχίσμα της αορτής και το μήκος στο οποίο εκτείνεται ο ψευδής αυλός. Έχουν επικρατήσει δύο συστήματα ταξινόμησης: η ταξινόμηση κατά DeBakey (εικόνα 2-9)³³ και η ταξινόμηση κατά Stanford (εικόνα 2-10).³⁴

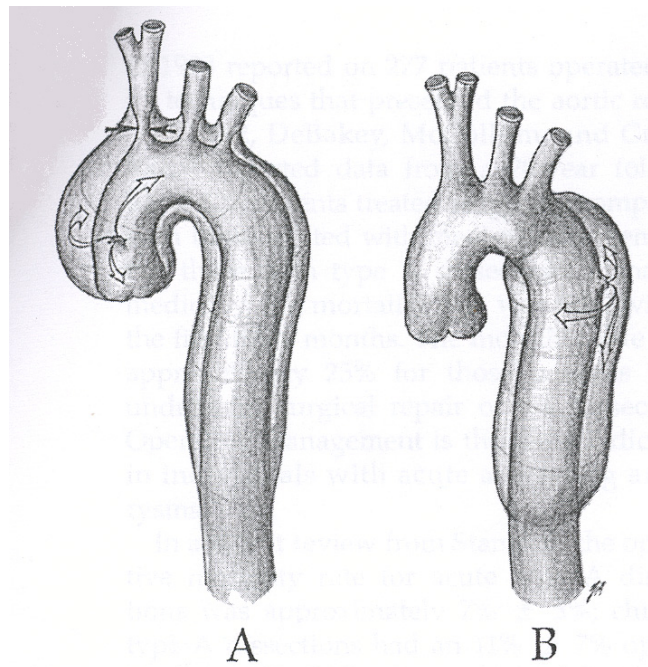
Εικόνα 2-8. Ταξινόμηση των θωρακοκοιλιακών ανευρυσμάτων κατά Crawford και τροποποίηση κατά Safi.



Εικόνα 2-9. Ταξινόμηση του διαχωρισμού της αορτής κατά DeBakey.



Εικόνα 2-10. Ταξινόμηση του διαχωρισμού της αορτής κατά Stanford.



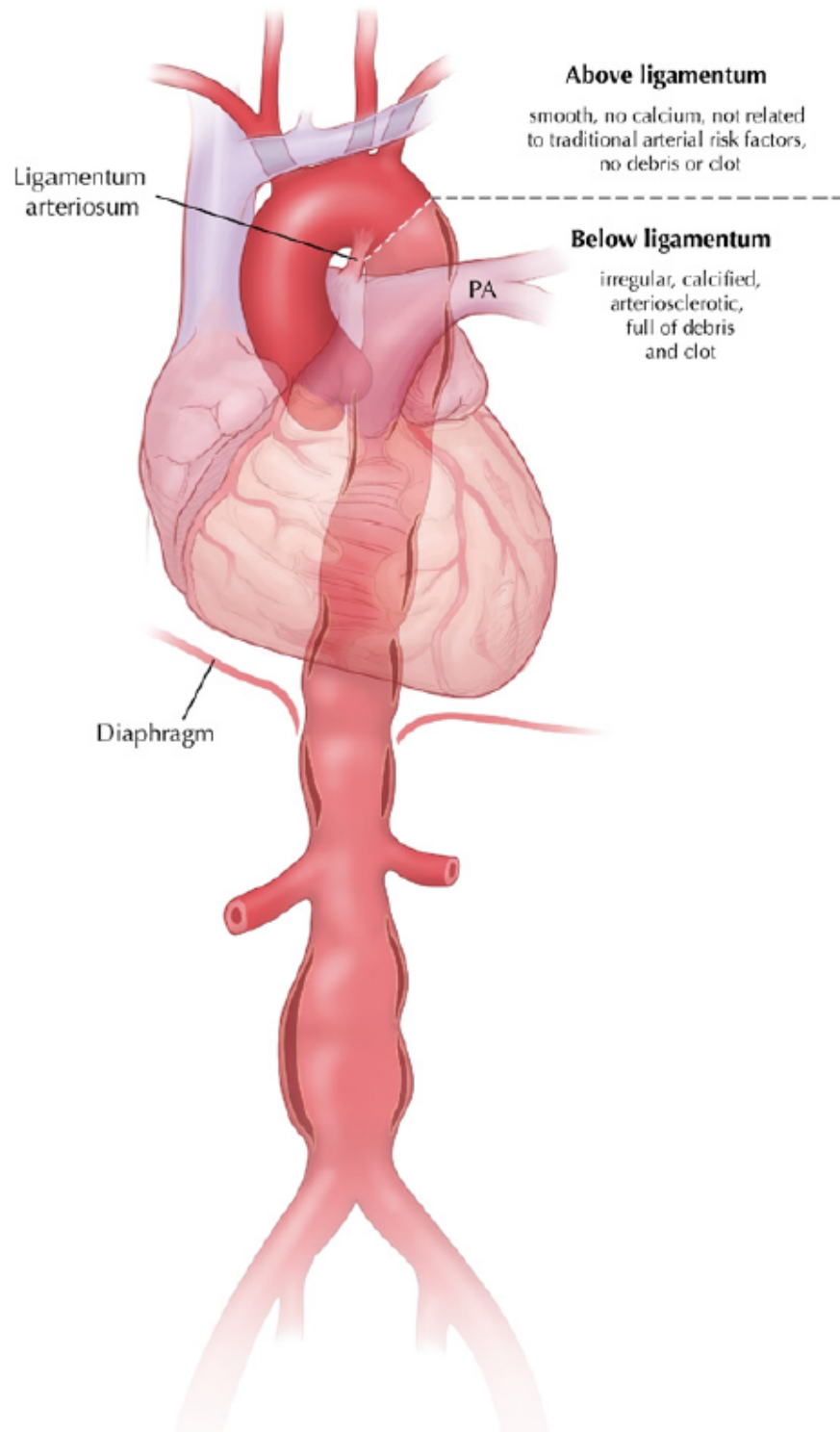
Τα ανευρύσματα της αορτής αποτελούν την 13^η αιτία θανάτου στις Η.Π.Α.¹ Η συχνότητα εμφάνισης των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής είναι περίπου 5.9/100,000 πληθυσμού κατ' έτος με υπεροχή των ανδρών σε αναλογία που κυμαίνεται από 2:1 έως 4:1.³⁵ Όσον αφορά στο διαχωρισμό της αορτής αν και δεν υπάρχουν ακριβή στοιχεία δεδομένου ότι πολλές περιπτώσεις διαχωρισμού της αορτής δεν αναγνωρίζονται πριν από το θάνατο, θεωρείται ότι η συχνότητα εμφάνισής του είναι περίπου 10/100,000 πληθυσμού κατ' έτος.³⁶

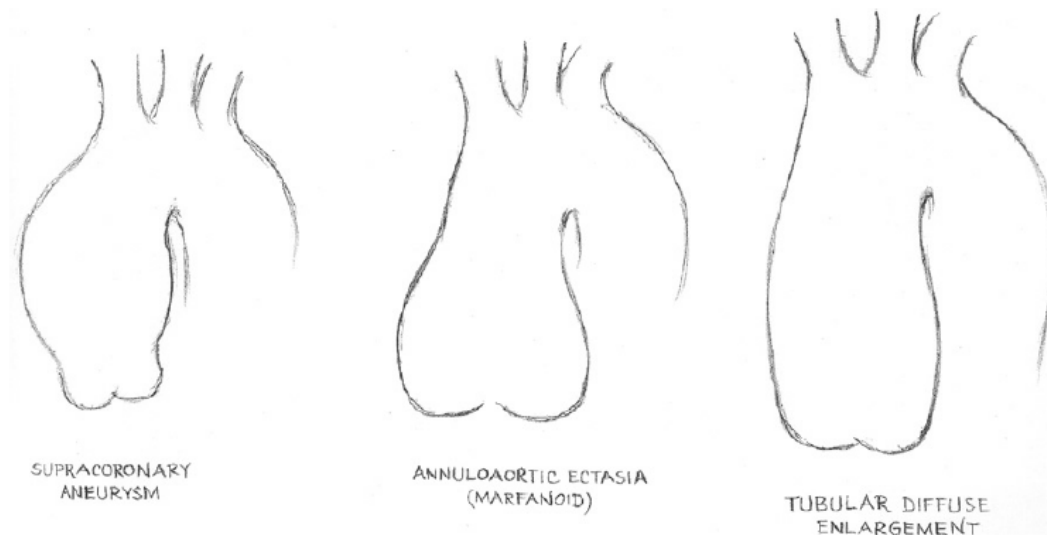
Όπως πολύ σωστά έχει λεχθεί, η φυσική ιστορία ενός ανευρύσματος της αορτής τερματίζεται με τη ρήξη αυτού, εκτός εάν ο ασθενής πεθάνει από άλλη αιτία. Τα ανευρύσματα της θωρακικής αορτής και τα θωρακοκοιλιακά ανευρύσματα βρέθηκε από τον Bickerstaff και συνεργάτες ότι υφίστανται ρήξη στο 74% των περιπτώσεων (95% στις περιπτώσεις που το ανεύρυσμα συνοδεύεται από διαχωρισμό και 51% στις περιπτώσεις που το ανεύρυσμα δεν συνοδεύεται από διαχωρισμό) και οι ασθενείς που υφίστανται τη ρήξη πεθαίνουν στο 94% των περιπτώσεων από αυτή.³⁵ Η πενταετής επιβίωση μετά τη διάγνωση του ανευρύσματος ανέρχεται σε 13% (7% για τους ασθενείς με διαχωρισμό της αορτής και 19.2% για τους ασθενείς χωρίς διαχωρισμό της αορτής), τη στιγμή που η αναμενόμενη επιβίωση κυμαίνεται στο 75%. Τελικά η τριετής επιβίωση ασθενών που δεν θα υποβληθούν σε εκλεκτική χειρουργική επέμβαση ανέρχεται σε 25.7%.

2.5 Ανευρύσματα ανιούσας θωρακικής αορτής

Τα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής είναι τυπικά ατρακτοειδή και μπορεί να εκτείνονται έως το αορτικό τόξο. Τα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής αποτελούν μία ξεχωριστή νόσο σε σχέση με τα ανευρύσματα της κατιούσας θωρακικής και κοιλιακής αορτής (εικόνα 2-11).³⁷ Τα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής μπορεί να διαιρεθούν σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με τη συμμετοχή της αορτικής ρίζας στο ανεύρυσμα (εικόνα 2-12).²⁸ Αυτή η ταξινόμηση ακολουθείται από πολλούς κλινικούς γιατρούς γιατί σχετίζεται άμεσα με το είδος της χειρουργικής θεραπείας που πρέπει να εφαρμοστεί.

Εικόνα 2-11. Τα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής είναι μία διαφορετική νόσος σε σύγκριση με τα ανευρύσματα της κατιούσας θωρακικής και κοιλιακής αορτής.



Εικόνα 2-12. Κατηγορίες ανευρυσμάτων ανιούσας θωρακικής αορτής.

Η πρώτη κατηγορία, που πιθανότατα είναι και η πιο συχνή ονομάζεται υπερστεφανιαίος τύπος. Σ' αυτή την κατηγορία ο αορτικός δακτύλιος έχει φυσιολογικό μέγεθος, όπως ακριβώς είναι φυσιολογικό σε μέγεθος και το βραχύ τμήμα της αορτής μεταξύ του αορτικού δακτυλίου και της έκφυσης των στεφανιαίων αρτηριών που εκτείνεται έως την κολποσωληνώδη συμβολή. Το ανεύρυσμα ξεκινάει περιφερικότερα της κολποσωληνώδους συμβολής και σ' αυτές τις περιπτώσεις η τυπική χειρουργική θεραπεία περιλαμβάνει την αντικατάσταση του ανευρύσματος με ένα απλό σωληνωτό μόσχευμα το οποίο ξεκινάει περιφερικότερα της έκφυσης των στεφανιαίων αρτηριών και εκτείνεται κεφαλικά έως το τέλος του ανευρύσματος της ανιούσας θωρακικής αορτής. Η δεύτερη κατηγορία ονομάζεται μαρφανοειδής τύπος (είτε πρόκειται για ασθενή με σύνδρομο Marfan είτε όχι). Αυτός ο τύπος ονομάζεται επίσης δακτυλιοαορτική εκτασία δίνοντας έμφαση στο ξεχωριστό χαρακτηριστικό του ότι ο αορτικός δακτύλιος και το πιο εγγύς τμήμα της αορτής είναι διατεταμένα. Επειδή ακριβώς ο αορτικός δακτύλιος και η εγγύς ανιούσα θωρακική αορτή είναι διατεταμένοι το σχήμα αυτού του ανευρύσματος θυμίζει φλασκή, όπως ακριβώς είναι τα πειραματικά δοχεία που χρησιμοποιούνται στη χημεία. Αυτή η κατηγορία ανευρυσμάτων απαιτεί σύνθετη αντικατάσταση όλης της αορτικής ρίζας και της αορτικής βαλβίδας, η οποία συνήθως πραγματοποιείται από ένα σύνθετο προκατασκευασμένο συνθετικό μόσχευμα το οποίο έχει ενσωματωμένο και μία μηχανική βαλβίδα στο εγγύς άκρο του. Η τρίτη

κατηγορία ονομάζεται σωληνωτός τύπος και αντιπροσωπεύει κάτι ενδιάμεσο μεταξύ των δύο προηγούμενων κατηγοριών. Ο αορτικός δακτύλιος και η εγγύς ανιούσα θωρακική αορτή είναι ως ένα βαθμό διατεταμένες αλλά όχι αξιοσημείωτα. Η ομοιόμορφη διάμετρος σε όλη την έκταση της ανιούσας θωρακικής αορτής είναι αυτή που τελικά προσδιορίζει τον όρο σωληνωτό ανεύρυσμα. Αυτή η κατηγορία ανευρυσμάτων μπορεί να αντιμετωπιστεί κατά περίπτωση είτε με ένα απλό σωληνωτό μόσχευμα είτε με ολική αντικατάσταση της αορτικής ρίζας και της ανιούσας θωρακικής αορτής. Επειδή η ηλικία του ασθενούς είναι ένας σημαντικός παράγοντας που λαμβάνεται υπόψη ένα σωληνωτό μόσχευμα θα προτιμηθεί σε έναν ηλικιωμένο ασθενή ενώ ένα σύνθετο μόσχευμα θα χρησιμοποιηθεί σε ένα νεώτερο ασθενή ώστε να προληφθεί μελλοντική επιδείνωση της διάτασης της αορτικής ρίζας που θα απαιτούσε επανεπέμβαση.

2.6 Επιδημιολογία των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής

Για πολλούς λόγους αποτελεί πρόκληση η προσπάθεια υπολογισμού και αξιολόγησης των αορτικών ανευρυσμάτων και των οξέων συμβαμάτων που απορρέουν από αυτά. Οι μεθοδολογικές προκλήσεις περιλαμβάνουν τα εξής: σύγχυση στους ορισμούς, προτιμήσεις των κέντρων αναφοράς, άγνωστο ποσοστό των ασυμπτωματικών ανευρυσμάτων στο γενικό πληθυσμό, ελλιπής διάγνωση της αορτικής ρήξης και του αορτικού διαχωρισμού ή ταξινόμησή τους ως έμφραγμα του μυοκαρδίου και τέλος περιορισμοί των διοικητικών βάσεων δεδομένων. Παρά τους πολλούς περιορισμούς στη μεθοδολογία, πολλές μελέτες έχουν επιχειρήσει να υπολογίσουν την επιδημιολογία των ανευρυσμάτων της αορτής (κοιλιακών και θωρακικών μαζί).³⁷⁻⁵¹ Η πιο πρόσφατη σειρά δεδομένων που είναι διαθέσιμη από το κέντρο ελέγχου νοσημάτων των ΗΠΑ δείχνει ότι η ανευρυσματική αορτική νόσος στο σύνολό της (κοιλιακά και θωρακικά ανευρύσματα) αποτελεί την 17^η πιο συχνή αιτία θανάτου σε όλο τον πληθυσμό και την 15^η σε άτομα του γενικού πληθυσμού άνω των 65 ετών, αριθμώντας 14.810 και 12.040 θανάτους ετησίως αντίστοιχα στις δύο παραπάνω ομάδες.²⁸ Αν ανάγουμε τα νούμερα αυτά στον πληθυσμό της Ελλάδας τότε μιλάμε για 495 θανάτους ετησίως από ανευρύσματα της αορτής στο γενικό πληθυσμό και 402 θανάτους ετησίως

από ανευρύσματα σε άτομα του γενικού πληθυσμού ηλικίας άνω των 65 ετών. Η επίπτωση των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής υπολογίζεται σε περίπου 10 περιστατικά ανά 100.000 ανθρωποέτη. Τα ανευρύσματα της θωρακικής αορτής είναι πιο συχνά στους άνδρες σε σχέση με τις γυναίκες (αναλογία 2:1) και η ηλικία της διάγνωσης είναι μία δεκαετία μεγαλύτερη στις γυναίκες (70 έτη) σε σχέση με τους άνδρες (60 έτη).

Ο συνολικός ετήσιος κίνδυνος ρήξης ή διαχωρισμού ενός υπάρχοντος ανευρύσματος της θωρακικής αορτής είναι περίπου 7% κατ' έτος, ποσοστό το οποίο μοιράζεται ισότιμα στη ρήξη και το διαχωρισμό.^{41,46,47} Ένα περίεργο και εν πολλοίς ανεξήγητο εύρημα είναι ότι το 79% των ρήξεων των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής απαντάται στις γυναίκες.^{41,46}

Δεν υπάρχει αμφιβολία ότι η διάγνωση των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής και των συμβαμάτων τους γίνεται με μεγαλύτερη συχνότητα τις τελευταίες δεκαετίες, κυρίως λόγω των αυξημένων απεικονιστικών εξετάσεων που γίνονται για πολλούς λόγους. Οι ιατροί στη Mayo Clinic διαπίστωσαν ότι την τελευταία δεκαπενταετία τριπλασιάστηκαν οι διαγνώσεις των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής.⁴⁰ Αυτό το φαινόμενο έχει επιβεβαιωθεί για το σύνολο του πληθυσμού των ΗΠΑ, αλλά και σε άλλες χώρες που έχουν λεπτομερή στατιστικά επιδημιολογικά στοιχεία όπως το Ηνωμένο Βασίλειο και η Ολλανδία.^{39,43,44,48} Πάντως παραμένει αδιευκρίνιστο κατά πόσο αυτή η αύξηση στις διαγνώσεις σε έναν κατά κανόνα περισσότερο γηρασμένο γενικό πληθυσμό οφείλεται στη βελτίωση των διαγνωστικών μεθόδων ή αποτελεί μία αυτή καθαυτή αύξηση της επίπτωσης της ίδιας της νόσου λόγω πιθανόν αυξημένων ποσοστών των παραγόντων κινδύνου που οδηγούν στην εμφάνισή τους.

2.7 Κλινική εικόνα και συμπτώματα των ανευρυσμάτων

Δυστυχώς η συντριπτική πλειοψηφία των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής παραμένει σιωπηλή, με τη ρήξη να αποτελεί σε πολλές περιπτώσεις το πρώτο σύμπτωμα. Μόνο ένα 5-10% των ασθενών θεωρούνται τυχεροί και βιώνουν συμπτώματα που προέρχονται από τα ανευρύσματά τους και θα βοηθήσουν στην πρόωμη διάγνωσή τους. Τα ανευρύσματα όλων των ειδών μπορούν να προκαλέσουν

πόνου που προέρχεται από την ανάπτυξη απότομης τάσης στο αορτικό τοίχωμα ή από πιεστικά φαινόμενα σε γειτονικούς ιστούς. Ο πόνος από την ανιούσα αορτή γίνεται κυρίως αντιληπτός οπισθοσθερνικά. Ο πόνος που οφείλεται σε ανεύρυσμα είναι συχνά δύσκολο να διαχωριστεί από άλλου είδους πόνους. Ο ιατρός θα πρέπει να ακούσει προσεκτικά τον ασθενή να περιγράφει τον πόνο ώστε να τον ξεχωρίσει από μυοσκελετικούς πόνους ή σπλαχνικούς πόνους. Εκατομμύρια ασθενών υποφέρουν από πόνο στην πλάτη, αλλά μόνο ο πόνος του ανευρύσματος είναι κατά κανόνα ανεξάρτητος από τη θέση του σώματος και τη φυσική δραστηριότητα. Η ρήξη της αορτής παράγει οξεία και δραματική συμπτωματολογία, συνήθως πολύ ισχυρό πόνο που συνοδεύεται από απώλεια της συνείδησης ή θάνατο λόγω της μεγάλης έκτασης εσωτερικής αιμορραγίας. Η ρήξη της ανιούσας αορτής πιο συγκεκριμένα συνοδεύεται από θωρακικό πόνο και καρδιακό επιπωματισμό.²⁸

Τα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής μπορεί να προκαλέσουν καρδιακή ανεπάρκεια με τα αντίστοιχα συμπτώματα μέσω της ανεπάρκειας της αορτικής βαλβίδας που συχνά προκαλούν. Καθώς η αορτική ρίζα μεγαλώνει σε διάμετρο οι γλωχίνες της αορτικής βαλβίδας σταδιακά απομακρύνονται από το σημείο συναρμογής τους και επιτρέπουν την παλινδρόμηση αίματος μέσα από το κενό που δημιουργείται κατά τη σύγκλισή τους. Επίσης, τα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής μπορεί να παραμορφώσουν ή και να αποφράξουν την τραχεία προκαλώντας συμπτώματα από το αναπνευστικό σύστημα. Η συμπίεση της άνω κοίλης φλέβας είναι ακόμα πιο σπάνια αλλά όταν συμβεί μπορεί να έχει όλα τα σημεία του συνδρόμου άνω κοίλης φλέβας με φλεβική συμφόρηση της κεφαλής, του αυχένα και των άνω άκρων.²⁸

Είναι αλήθεια, και φυσικό επακόλουθο λόγω της σπάνιας συμπτωματολογίας που δίνουν τα ανευρύσματα της θωρακικής αορτής, ότι στις μέρες μας η διάγνωσή τους γίνεται κατά κανόνα τυχαία από απεικονιστικές εξετάσεις που γίνονται για άλλους λόγους. Η διάγνωση των ανευρυσμάτων με τις απεικονιστικές εξετάσεις (αξονικές και μαγνητικές τομογραφίες και υπερηχογραφήματα καρδιάς) προσφέρει μία μοναδική ευκαιρία για πρόληψη των θανάτων που οφείλονται στα ανευρύσματα μέσω της έγκαιρης εντόπισης και αντιμετώπισής τους.

2.8 Φυσική εξέταση των ανευρυσμάτων

Τα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής δεν μπορούν να ανιχνευτούν στη φυσική εξέταση εκτός και αν προκαλούν ανεπάρκεια της αορτικής βαλβίδας, η οποία γίνεται αντιληπτή με το χαρακτηριστικό διαστολικό φύσημα το οποίο ακούγεται καλύτερα στο δεξιό ή αριστερό άνω όριο του στέρνου.

2.9 Απεικονιστικές εξετάσεις των ανευρυσμάτων

Για τις παθήσεις της αορτής, οι κατάλληλες απεικονιστικές εξετάσεις χρειάζονται πάντα για να απαντήσουν σε πολύ συγκεκριμένες ερωτήσεις: υπάρχει ανεύρυσμα της αορτής; Υπάρχει διαχωρισμός της αορτής; Υπάρχει ρήξη της αορτής;

Η απλή ακτινογραφία θώρακος είναι μία χρήσιμη εξέταση. Στον έμπειρο και παρατηρητικό κλινικό ιατρό τα χρόνια ανευρύσματα της θωρακικής αορτής θα γίνουν αντιληπτά. Η αυξημένης διαμέτρου ανιούσα θωρακική αορτή θα προβάλλει στο δεξιό και άνω όριο του μεσοθωρακίου, ένα ανεύρυσμα του αορτικού τόξου θα αναδειχτεί με μία υπερβολική διόγκωση του αορτικού κυρτώματος και ένα ανεύρυσμα της κατιούσας θωρακικής αορτής θα γίνει ορατό ως μία αριστερά αποκλίνουσα λωρίδα της κατιούσας θωρακικής αορτής. Στις περιπτώσεις αορτικού διαχωρισμού η απλή ακτινογραφία θώρακος μπορεί να δώσει αδρές πληροφορίες και να θέσει την υποψία διαχωρισμού μέσω ευρημάτων όπως η διεύρυνση του μεσοθωρακίου σε όρθια θέση, η ύπαρξη πλευριτικής συλλογής ή η προς τα έσω μετατόπιση της ασβέστωσης του μέσου χιτώνα της αορτής.

Πολλές διαγνωστικές εξετάσεις με δυνατότητα τρισδιάστατης απεικόνισης είναι πολύ καλές στην ανίχνευση της αορτικής παθολογίας, όλες με άριστη ευαισθησία και ειδικότητα όπως το διοισοφάγειο υπερηχογράφημα, η αξονική τομογραφία και η μαγνητική τομογραφία (πίνακας 2-2).²⁹

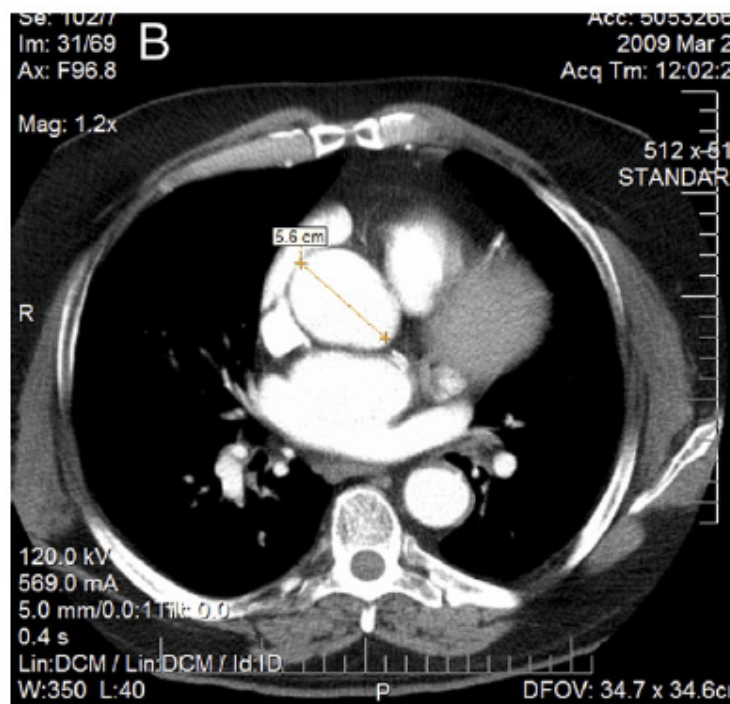
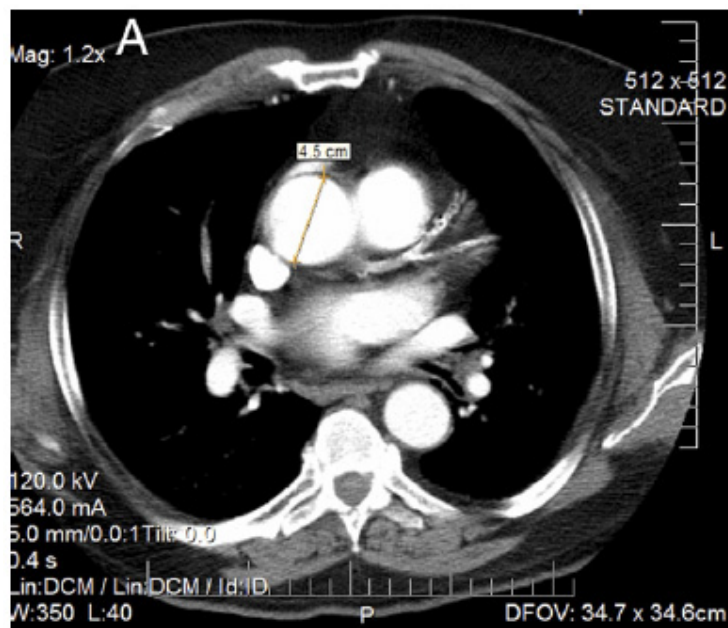
Πίνακας 2-2. Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα αξονικής και μαγνητικής τομογραφίας καθώς και διωισοφάγειου υπερηχογραφήματος.

Table II. Imaging the thoracic aorta

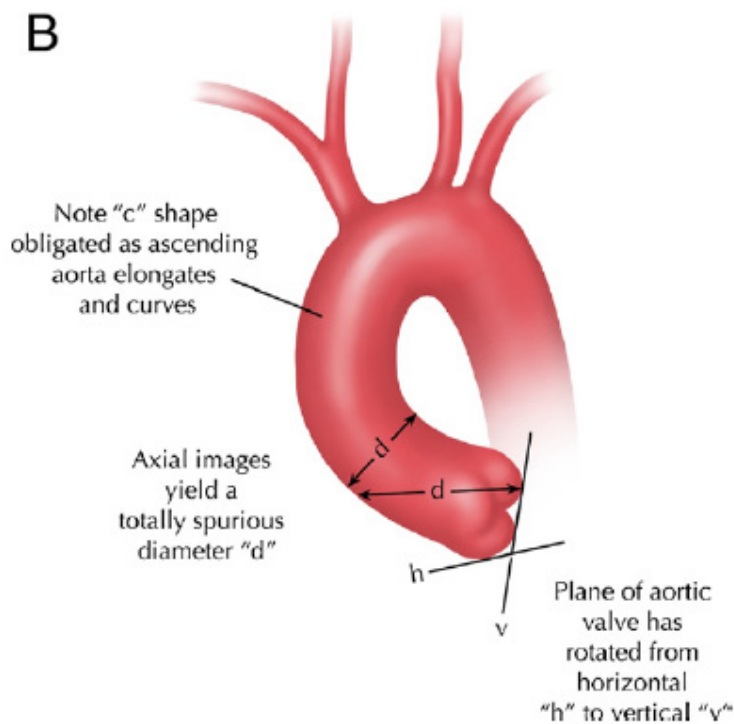
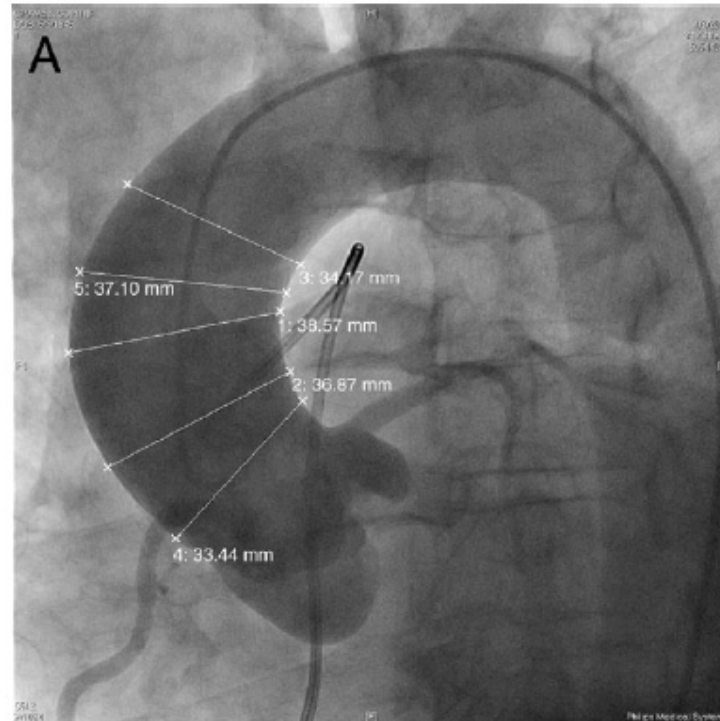
Modality	Advantages	Disadvantages
MDCT angiography	• Rapid image acquisition (20-30 seconds) • 3D reconstruction allows multiple views/orientations • Ability for post image processing • Faster imaging times reduce time to diagnosis in potentially unstable patients	• Need for iodinated contrast • Radiation exposure (10-20 mSv) – ◦ of concern in young patients requiring serial imaging • Image artifacts—particularly in aortic root ◦ may be improved by ECG gating • Aortic size can be overestimated due to oblique cuts through lumen.
MRI/MR angiography	• No Radiation • No iodinated contrast • 3 D, multi planar and high resolution • Dynamic and functional information available • May be appropriate for serial imaging over many years.	• Caution with use of gadolinium in renal failure • Need for breath hold • Time consuming (10-30minutes at minimum) depending on center • Not for use in unstable patients (distance of equipment/staff for resuscitation from patient)
Transesophageal echocardiography	• No radiation • No iodinated contrast • Can be performed at the bedside, • Immediate information availability • Excellent evaluation of valve function, pericardial effusion and left ventricular function • Can visualize aorta from root to gastroesophageal junction junction • Doppler interrogation of true and false lumen	• Cannot visualize entire aorta • May be limited by technical difficulties • Semi-invasive • Requires conscious sedation and patent/secure airway

Πολλοί ασθενείς υποβάλλονται σε διωισοφάγειο υπερηχογράφημα και κατόπιν σε αξονική ή μαγνητική τομογραφία. Η αξονική και η μαγνητική τομογραφία απεικονίζουν την τρισδιάστατη δομή ολόκληρης της αορτής. Η τρισδιάστατη απεικόνιση θα πρέπει πάντα να γίνεται γιατί μπορεί να προκύψουν λάθη από μετρήσεις βασισμένες μόνο σε εγκάρσιες τομές (εικόνες 2-13 και 2-14). Το διωισοφάγειο υπερηχογράφημα αν και θεωρείται ότι αδυνατεί εν μέρει να εξετάσει το άπω τμήμα της ανιούσας αορτής (εικόνα 2-15), το αορτικό τόξο (εικόνα 2-16) και την κοιλιακή αορτή, εντούτοις προσφέρει πολλές άλλες χρήσιμες πληροφορίες όπως η ύπαρξη περικαρδιακής συλλογής ή καρδιακού επιπωματισμού, λειτουργία των βαλβίδων (στο ανεύρυσμα της ανιούσας θωρακικής αορτής ενδιαφέρει ιδιαίτερα η αορτική βαλβίδα) και η συστολική λειτουργία της αριστερής κοιλίας της καρδιάς.³⁷

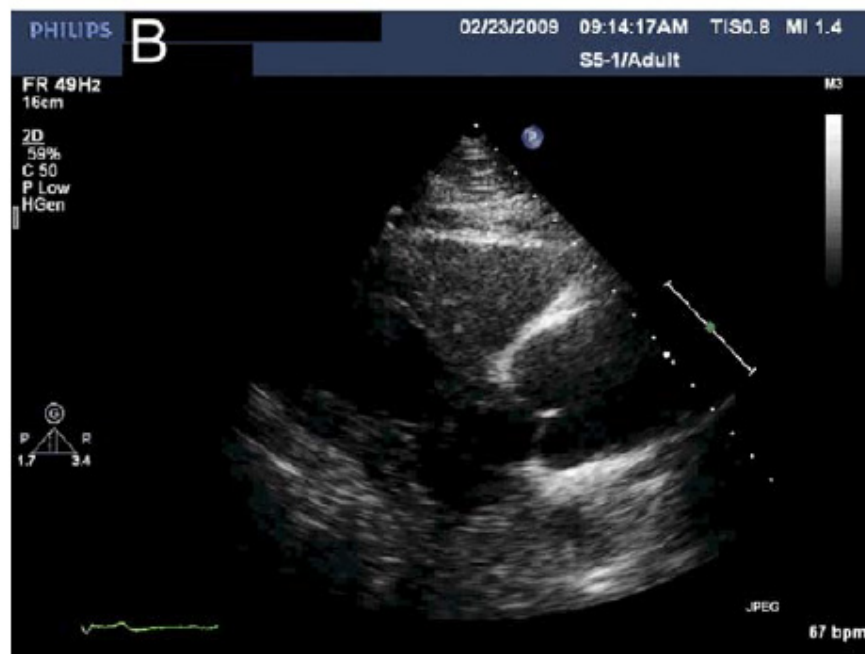
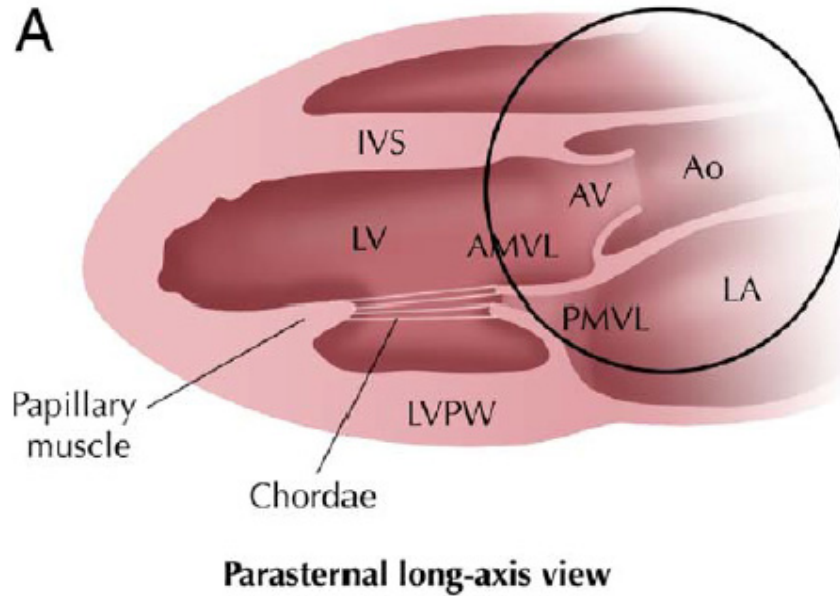
Εικόνα 2-13. Σε εγκάρσιες τομές υπάρχει δυσκολία να καθοριστεί εάν μία εγκάρσια τομή διέρχεται μερικώς από την αορτή. Οι εικόνες Α και Β διαφέρουν μόνο κατά ένα βήμα και δείχνουν διαφορετική διάμετρο αορτής κυρίως επειδή στην εικόνα Β η τομή περιλαμβάνει και τμήμα του χώρου εξόδου της αριστερής κοιλίας.



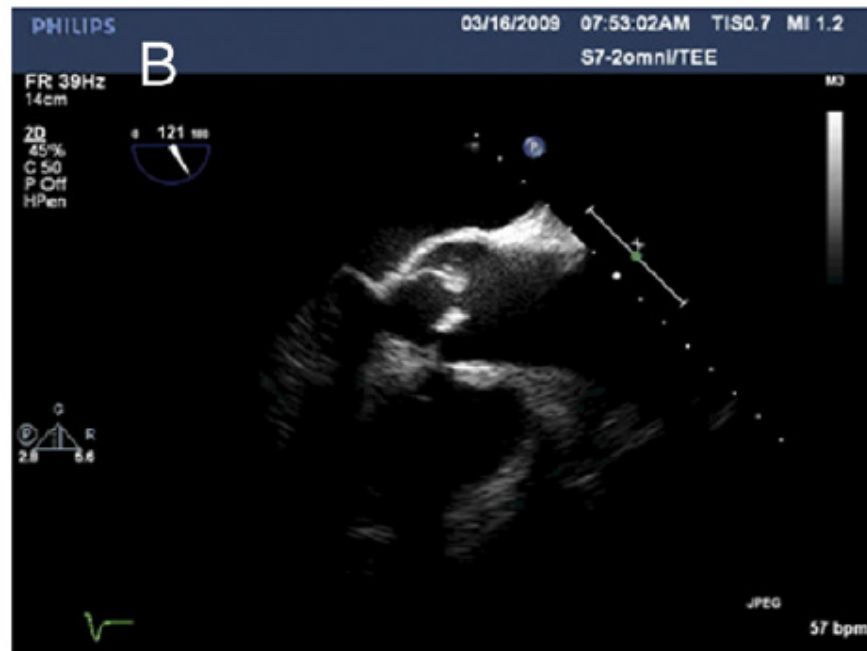
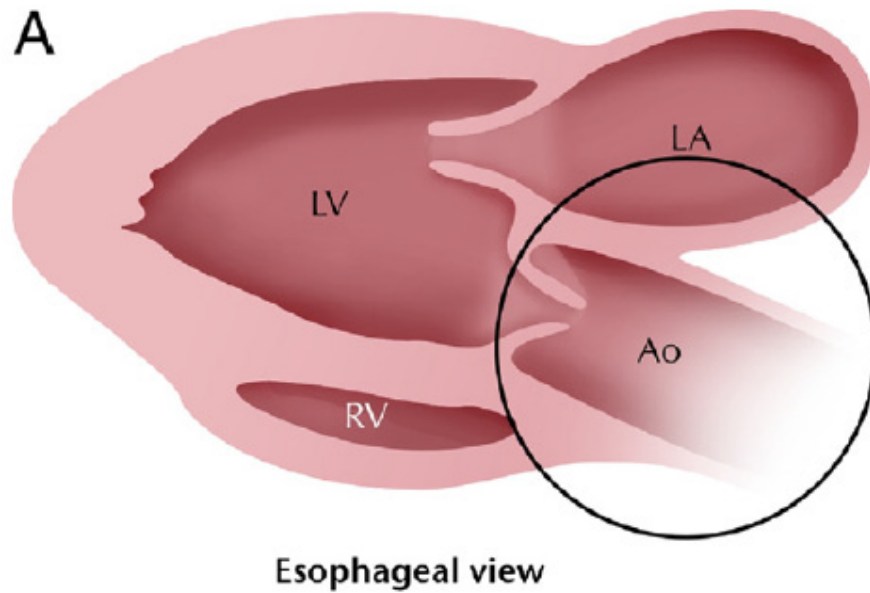
Εικόνα 2-14. Απεικονίζεται το σχήμα C της ανιούσας αορτής λόγω επιμήκυνσης και αλλαγής του επιπέδου της αορτικής βαλβίδας που μπορεί να οδηγήσει σε εσφαλμένες μετρήσεις της αορτικής διαμέτρου σε εγκάρσιες τομές.



Εικόνα 2-15. Απεικονίζονται τα όρια ευκρίνειας του διοισοφάγειου υπερηχογραφήματος όπου φαίνεται η αδυναμία εκτίμησης του άπω τμήματος της ανιούσας θωρακικής αορτής.



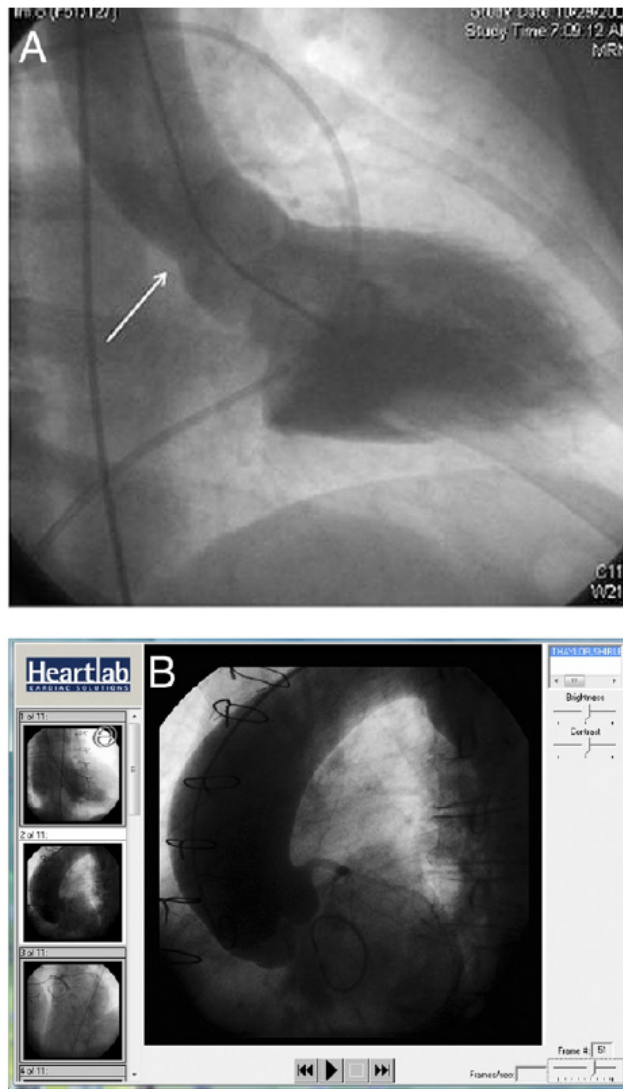
Εικόνα 2-16. Απεικονίζονται τα όρια ευκρίνειας του διοισοφάγειου υπερηχογραφήματος όπου φαίνεται η αδυναμία εκτίμησης του αορτικού τόξου.



Το κυρίως διαγνωστικό κριτήριο για τον αορτικό διαχωρισμό στην αξονική ή μαγνητική τομογραφία είναι η απεικόνιση δύο αυλών με σκιαγραφικό οι οποίοι ξεχωρίζουν από έναν κρημνό του έσω χιτώνα της αορτής. Η ευαισθησία και η ειδικότητα της αξονικής και της μαγνητικής τομογραφίας στη διάγνωση του αορτικού

διαχωρισμού αγγίζει το 100%.^{28,37} Το διοισοφάγειο υπερηχογράφημα δεν υστερεί πολύ σε ακρίβεια σε σχέση με την αξονική και τη μαγνητική τομογραφία. Η αορτογραφία με σκιαγραφικό, που αποτελούσε παλαιότερα την εξέταση εκλογής (εικόνα 2-16) για τη διάγνωση του διαχωρισμού έχει πλέον υποσκελιστεί από τις μεθόδους που αναφέρθηκαν παραπάνω επειδή είναι επεμβατική μέθοδος και κυρίως επειδή αδυνατεί να παρέχει πληροφορίες σχετικά με την απεικόνιση του αορτικού τοιχώματος στις τρεις διαστάσεις.³⁷

Εικόνα 2-17. Απεικονίζεται η ικανότητα της αορτογραφίας να αναδείξει το χαρακτηριστικό στένεμα της ανιούσας θωρακικής αορτής στο ύψος της κολποσωληνώδους συμβολής.



2.10 Διαφορική διάγνωση των ανευρυσμάτων

Η κύρια διαγνωστική προσέγγιση του κλινικού ιατρού για τα ανευρύσματα της θωρακικής αορτής θα πρέπει να περιλαμβάνει δύο βασικές αρχές: πρώτον, ένα υψηλό δείκτη υποψίας της ανευρυσματικής νόσου ώστε να παραγγελθούν οι κατάλληλες διαγνωστικές εξετάσεις και δεύτερον, να γνωρίζει τις ευμετάβλητες κλινικές εικόνες της ανευρυσματικής νόσου και κυρίως των επιπλοκών της. Πιο συγκεκριμένα ο διαχωρισμός της αορτής έχει αναφερθεί ως η κλινική οντότητα με τη μεγαλύτερη μεταμφίεση, γιατί μπορεί να προκαλέσει συμπτώματα που σχετίζονται πρακτικά με οποιοδήποτε όργανο. Σ' αυτές τις περιπτώσεις χρειάζεται ένας υψηλός δείκτης υποψίας ώστε να τεθεί γρήγορα η διάγνωση του διαχωρισμού, δεδομένου ότι οι κλινικές εικόνες του διαχωρισμού μπορεί να είναι τόσες πολλές ώστε να μιμούνται μία μεγάλη γκάμα άλλων ασθενειών. Κανονικά σε κάθε ασθενή που προσέρχεται στο νοσοκομείο με θωρακικό άλγος χωρίς εμφανή αιτία του πόνου θα πρέπει να απεικονίζεται η θωρακική αορτή του. Είναι συχνό φαινόμενο ασθενείς με διαχωρισμό ή ρήξη θωρακικής αορτής να αντιμετωπίζονται ως ασθενείς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο με ολέθριες επιπτώσεις για τη περαιτέρω διάγνωση και έγκαιρη αντιμετώπισή τους. Έτσι είναι πολύ σημαντικό για τον κλινικό ιατρό να μπορεί να αποκλείσει τον αορτικό διαχωρισμό σε ασθενείς που θα πρέπει να λάβουν θεραπεία για οξύ στεφανιαίο σύνδρομο, όπως θρομβόλυση, η οποία συνδέεται με πολύ υψηλή θνητότητα όταν χορηγηθεί σε ασθενείς με διαχωρισμό της αορτής.²⁸

Μεταξύ των ασθενειών που μπορεί να υπάρξει σύγχυση με τη διάγνωση του αορτικού διαχωρισμού θα πρέπει να συμπεριληφθούν το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, το μυοσκελετικό θωρακικό άλγος, η περικαρδίτιδα, η πλευρίτιδα, ο πνευμοθώρακας, η πνευμονική εμβολή, η χολοκυστίτιδα, ο κωλικός του ουρητήρα, η σκωληκοειδίτιδα, η ισχαιμία του μεσεντερίου, η πυελονεφρίτιδα, το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, το παροδικό ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο και η πρωτογενής ισχαιμία των κάτω άκρων. Μία ομάδα ασθενών που προσέρχονται στα επείγοντα με αρκετά πιθανή τη διάγνωση του αορτικού διαχωρισμού είναι αυτοί που προσέρχονται με κοιλιακό άλγος το οποίο όμως δεν σχετίζεται με κάποια παθολογία από την κοιλιά.

Δεδομένης της εκτεταμένης διαφορικής διάγνωσης, θα πρέπει ο κλινικός ιατρός να δρα πολλές φορές επιθετικά και να μη διστάζει να παραγγέλνει αιτιολογημένες

διαγνωστικές εξετάσεις όταν υποπτεύεται την ύπαρξη αορτικού διαχωρισμού. Η διάγνωση του διαχωρισμού είναι πολύ πιθανή σε ασθενείς που προσέρχονται στα επείγοντα με μεταναστευτικό άλγος στο θώρακα και την κοιλιά, ο οποίος έχει διάρκεια λιγότερο από 24 ώρες και εμφανίζεται σε ασθενείς με ιστορικό υπέρτασης. Συμπερασματικά προτείνονται οι παρακάτω συμβουλές στους κλινικούς ιατρούς πρώτης γραμμής στο τμήμα επειγόντων περιστατικών:²⁸

1. Θα πρέπει να βάζουν πάντα στη διαφορική διάγνωση την πιθανότητα αορτικού διαχωρισμού ή ρήξης ανευρύσματος της θωρακικής αορτής.
2. Θα πρέπει να παραγγέλνουν ελεύθερα και χωρίς πολλές σκέψεις απεικονιστικές εξετάσεις για να αποκλείσουν την παθολογία της αορτής. Μία τέτοια περίπτωση αποτελεί ο κανόνας του τριπλού αποκλεισμού με τη διενέργεια αξονικής τομογραφίας με ευκρίνεια 64 τομών ώστε να αποκλειστούν οι τρεις κύριες παθολογίες από το θώρακα που απειλούν άμεσα τη ζωή των ασθενών: η στεφανιαία νόσος, η πνευμονική εμβολή και ο αορτικός διαχωρισμός.
3. Θα πρέπει να θυμούνται πάντα την εξέταση των D-dimers. Μία αρνητική εξέταση D-dimers στα επείγοντα μπορεί να αποκλείσει τη διάγνωση τόσο της πνευμονικής εμβολής όσο και του αορτικού διαχωρισμού. Ο θρόμβος που δημιουργείται στον ψευδοαυλό του αορτικού διαχωρισμού απελευθερώνει γρήγορα D-dimers τα οποία εύκολα είναι ανιχνεύσιμα σε υψηλές τιμές καθιστώντας αυτή την απλή αιματολογική εξέταση με σχεδόν 100% ευαισθησία πολύ σημαντική στην ανίχνευση του αορτικού διαχωρισμού.
4. Θα πρέπει τέλος να μη ξεχνούν να κοιτούν πάντα στις απεικονιστικές εξετάσεις με ακρίβεια και λεπτομέρεια την αορτή, ακόμα και στην περίπτωση που μία αξονική τομογραφία έχει ζητηθεί για κάποιον άλλο πρωταρχικό λόγο.

2.11 Φαρμακευτική θεραπεία των χρόνιων ανευρυσμάτων

Οι ασθενείς με ανευρύσματα της θωρακικής αορτής λαμβάνουν σε πολλές περιπτώσεις β-αναστολείς ως φαρμακευτική θεραπεία με απώτερο στόχο να μειωθεί η βλαπτική επίδραση της συστολής στο αορτικό τοίχωμα. Η αποτελεσματικότητα όμως αυτής της θεραπείας δεν έχει ουσιαστικά αποδειχτεί και είναι κατά κάποιον τρόπο αμφισβητούμενη, αλλά στην κλινική πράξη έχει επικρατήσει η χορήγηση των β-

αναστολέων να είναι ρουτίνα. Μία μελέτη με μακροχρόνια παρακολούθηση ασθενών από το Johns Hopkins με μέσου μεγέθους ανευρύσματα σε ασθενείς με σύνδρομο Marfan δείχνει τη χρησιμότητα των β-αναστολέων,⁵² παρόλα αυτά, κάτι τέτοιο δεν σημαίνει ότι το όφελος υπάρχει και στους ασθενείς με σποραδικά ανευρύσματα της θωρακικής αορτής.²⁸ Οι αμφισβητήσεις για τη χρησιμότητα χορήγησης των β-αναστολέων έγκειται στις εξής παρατηρήσεις: Υπάρχουν πειραματικά δεδομένα που δείχνουν ότι η χορήγηση β-αναστολέων μειώνει την ελαστικότητα του αορτικού τοιχώματος, κάτι που είναι ήδη επηρεασμένο στα ανευρύσματα της θωρακικής αορτής. Υπάρχουν αρκετά ερωτηματικά αναφορικά με τις ανεπιθύμητες δράσεις των β-αναστολέων ειδικά σε σχετικά νέους ασθενείς, δεδομένου μάλιστα ότι από τη στιγμή που θα χορηγηθεί θεραπεία με β-αναστολείς αυτή αποτελεί μία θεραπεία που θα κρατήσει εφόρου ζωής. Επιπλέον, υπάρχουν ερωτηματικά σχετικά με μία αυξημένη θνητότητα που έχει παρατηρηθεί σε ασθενείς με κοιλιακά ανευρύσματα σε μία τυφλή τυχαιοποιημένη μελέτη σχετικά με τη χορήγηση β-αναστολέων στα κοιλιακά ανευρύσματα. Παρόλα αυτά, η πλειοψηφία των κλινικών ιατρών δεν αντιτίθεται στην πρακτική χορήγησης β-αναστολέα στην ανευρυσματική νόσο της θωρακικής αορτής, δεδομένου ότι δεν έχουν τεκμηριωθεί αρνητικές επιπτώσεις. Οποσδήποτε η αρτηριακή υπέρταση σε ασθενείς με ανευρύσματα της θωρακικής αορτής πρέπει να ρυθμίζεται αυστηρά με κατάλληλη αντιυπερτασική φαρμακευτική αγωγή (πίνακας 2-3), ώστε να μειώνονται οι αυξημένες δυνάμεις διατμητικής τάσης επί του αορτικού τοιχώματος.²⁹

Η έρευνα στο πεδίο της φαρμακευτικής αντιμετώπισης των ανευρυσμάτων της αορτής είναι σε εξέλιξη και δοκιμάζονται διάφορα φάρμακα που θα μπορούσαν να επιβραδύνουν το ρυθμό αύξησης των ανευρυσμάτων.²⁸ Για παράδειγμα το αντιβιοτικό δοξυκυκλίνη, που αποτελεί έναν αναστολέα των μεταλλοπρωτεϊνών, βρίσκεται υπό δοκιμή σε μεγάλης κλίμακας κλινικές μελέτες σε ασθενείς με ανευρύσματα της κοιλιακής αορτής. Παρόλα αυτά δεν φαίνεται να μπορεί να επιτύχει σημαντικά αποτελέσματα αναστολής αύξησης της διαμέτρου των ανευρυσμάτων. Άλλες κατηγορίες φαρμάκων που θεωρητικά θα μπορούσαν να βοηθήσουν στη σταθεροποίηση των ανευρυσμάτων και έχουν δείξει θετικά στοιχεία σε μικρές κλινικές σειρές ή πειραματικά μοντέλα είναι αντιφλεγμονώδεις παράγοντες όπως οι αναστολείς της COX-2, οι στατίνες, ανοσοκατασταλτικά όπως η ραπαμυσίνη και οι αναστολείς των υποδοχέων αγγειοτενσίνης όπως η λωσαρτάνη. Βέβαια κανένα από αυτά τα φάρμακα

δεν έχει αποδεδειγμένο κλινικό όφελος ακόμα, αν και μία εντυπωσιακή μελέτη από τον Dietz και συνεργάτες έδειξε μία δραματική αναστολή της ανευρυσματικής νόσου με τη χορήγηση λοσαρτάνης σε ένα πειραματικό μοντέλο με σύνδρομο Marfan.^{53,54} Οι κλινικές μελέτες που θα αποδείξουν την πραγματική κλινική χρησιμότητα αυτών ή άλλων καινοτομικών φαρμακευτικών ουσιών στην καταπολέμηση των ανευρυσμάτων βρίσκονται ήδη υπό εξέλιξη και τα αποτελέσματά τους αναμένονται σύντομα.

Πίνακας 2-3. Φαρμακευτική αγωγή ανευρυσμάτων θωρακικής αορτής.

Table III. Thoracic aortic aneurysm - chronic medical therapy		
Medication	Dosage	Goal of therapy
First-line agent: • β -Blockers	Titrate to effect	• Heart rate <60 beat/min
Second Line Agents: • Angiotensin Receptor Blockers • ACE inhibitors	Start at a low dose and titrate to BP goals	• Blood pressure <130/80 mm Hg • Use in all pts with Marfan syndrome
Third-line agent: • Calcium-channel blocker (dihydropyridine) Statins	Start at a low dose and titrate to above goals Highest dose that patient can tolerate to reach goals.	• Use as needed to attain BP goal <130/80 mm Hg • Goal LDL <70 ng/dL if atherosclerosis • LDL <100 ng/dL if no atherosclerosis
Tobacco cessation aids • Varenicline • Chantix • Bupropion • Nicotine replacement	Standard dosing	• Smoking cessation

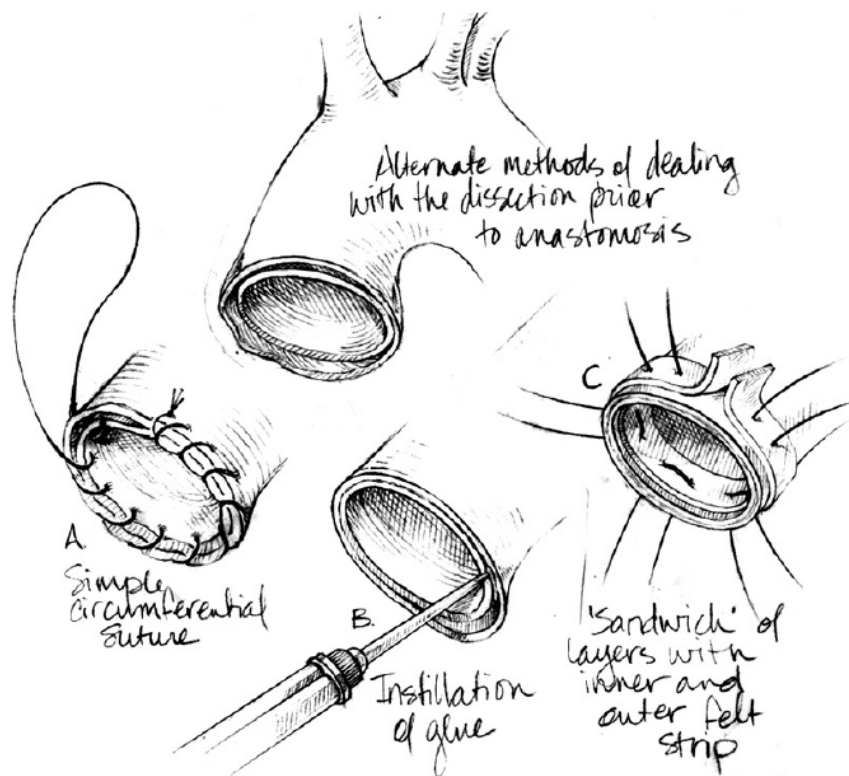
2.12 Χειρουργική θεραπεία των ανευρυσμάτων

Η χειρουργική θεραπεία των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής στη σύγχρονη εποχή οφείλεται στην πρωτοποριακή δουλειά και στις καινοτόμες χειρουργικές τεχνικές που ανέπτυξαν οι Cooley και DeBakey, και τις δημοσίευσαν το 1952.⁵⁵ Από τότε μέχρι σήμερα έχουν βελτιστοποιηθεί οι χειρουργικές τεχνικές για την αντικατάσταση των ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής, του αορτικού τόξου, της κατιούσας θωρακικής αορτής όπως και της θωρακοκοιλιακής αορτής. Τα μοσχεύματα από το υλικό Dacron, τα οποία χρησιμοποιούνται εδώ και πολλά χρόνια είναι ανθεκτικά στο χρόνο και το σημαντικότερο είναι ότι δεν απαιτείται η χορήγηση αντιπηκτικής ή κάποιας άλλης φαρμακευτικής αγωγής. Αν και οι χειρουργικοί κίνδυνοι πάντα υπάρχουν σε τέτοιες μεγάλες χειρουργικές επεμβάσεις και περιλαμβάνουν την αιμορραγία, το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, την παραπληγία και το θάνατο, οι επεμβάσεις αυτές μπορούν πλέον να πραγματοποιούνται με μεγάλη ασφάλεια, ειδικά δε

στις περιπτώσεις που πραγματοποιούνται σε προγραμματισμένη βάση, πριν επέλθει η ρήξη ή ο διαχωρισμός. Πρόσφατα δημοσιευμένες μελέτες από διάφορα κέντρα έχουν καταγράψει την ασφάλεια με την οποία διενεργούνται τέτοιες επεμβάσεις προγραμματισμένα σε μεγάλες σειρές ασθενών με ανευρύσματα της θωρακικής αορτής.⁵⁶

Για τον οξύ αορτικό διαχωρισμό θα πρέπει να σημειωθεί ότι τα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής θα πρέπει να χειρουργούνται επείγοντως, δεδομένου ότι ο θάνατος επέρχεται σύντομα σε μη χειρουργημένους ασθενείς, λόγω ενδοπερικαρδιακής ρήξης, ανεπάρκειας της αορτικής βαλβίδας ή οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου λόγω επέκτασης του διαχωρισμού στις στεφανιαίες αρτηρίες. Τα διαχωρισμένα τμήματα της αορτής συμπλησιάζονται χειρουργικά με την τεχνική σάντουιτς με την παρεμβολή λωρίδων από Teflon (εικόνα 2-18). Η συνολική επιβίωση σε μεγάλα κέντρα με σημαντική εμπειρία στη διενέργεια τέτοιων επεμβάσεων είναι περίπου 85% για τους ασθενείς με οξύ αορτικό διαχωρισμό τύπου Α σύμφωνα με την ταξινόμηση κατά Stanford.⁵⁷

Εικόνα 2-18. Χειρουργική τεχνική αντιμετώπισης του αορτικού διαχωρισμού.

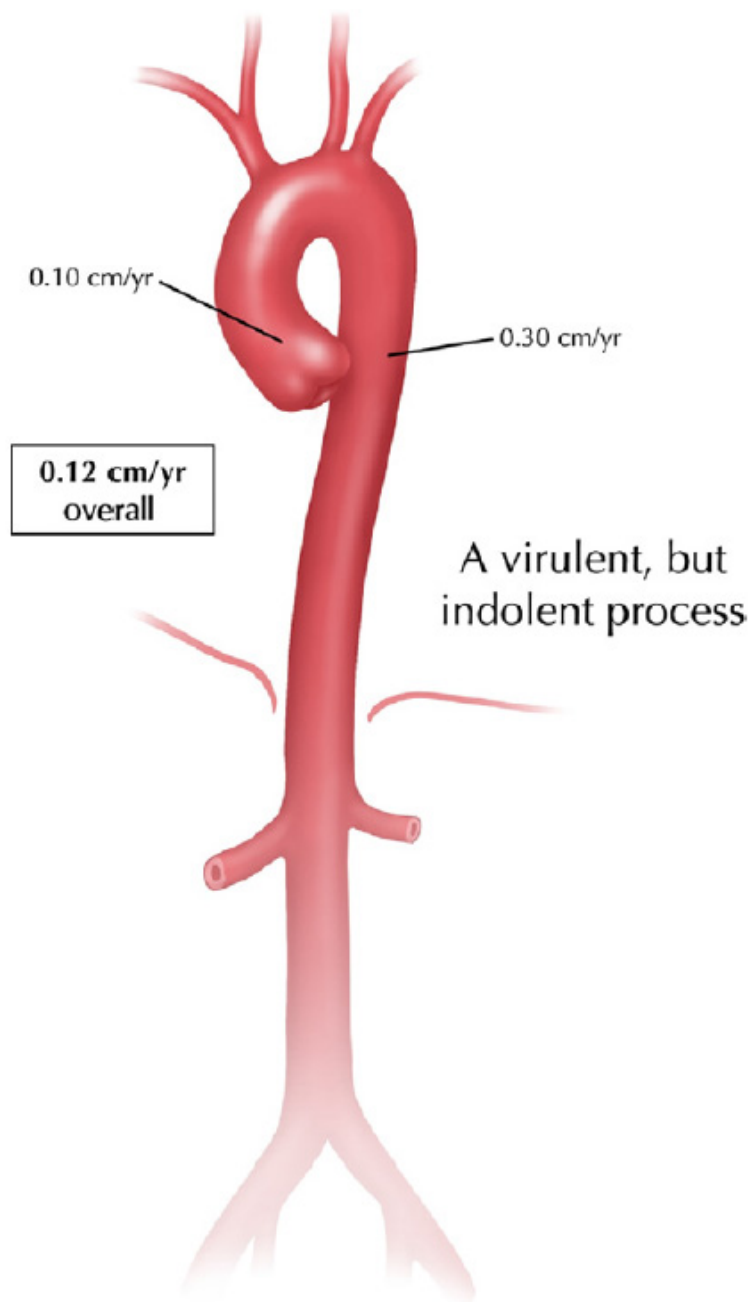


2.13 Σε ποιο μέγεθος παθαίνει ρήξη ή διαχωρισμό η θωρακική αορτή;

Στα μέσα της δεκαετίας του 1990 υπήρχαν περίπου 300 δημοσιευμένες εργασίας οι οποίες έδιναν μεγάλη έμφαση στην πραγματοποίηση των αορτικών επεμβάσεων, ενώ ελάχιστες από αυτές τις μελέτες αναφέρονταν στη φυσική ιστορία των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής όπως και στη θεμελίωση ενδείξεων για το πότε πρέπει να χειρουργείται ένα ανεύρυσμα. Πάνω στον τελευταίο τομέα της φυσικής εξέλιξης των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής μία μεγάλη σε έκταση έρευνα έχει συντελεστεί στο Yale Center for Thoracic Aortic Disease. Η συγκεκριμένη ομάδα έχει χρησιμοποιήσει μία βάση δεδομένων αποτελούμενη από σχεδόν 3000 ασθενείς που έχουν αντιμετωπιστεί σ' αυτό το κέντρο με χιλιάδες αορτικές απεικονίσεις και ανθρωποέτη παρακολούθησης.⁵⁸⁻⁶¹ Το γενικό συμπέρασμα είναι ότι το ανεύρυσμα της θωρακικής αορτής είναι μία θανατηφόρος ασθένεια, με θνητότητα που αγγίζει το 50% στην πενταετία με την πλειονότητα των θανάτων να σχετίζονται με το ανεύρυσμα.

Πόσο γρήγορα μεγαλώνει η διάμετρος της αορτής; Αν και το ανεύρυσμα της θωρακικής αορτής αποτελεί μία δυνητικά θανατηφόρα ασθένεια, εντούτοις αποτελεί μία νωχελική από πλευράς αύξησης νόσο. Οι προσεκτικές μετρήσεις (με τη χρήση εκθετικών εξισώσεων που αναπτύχθηκαν από τον Dr. John Rizzo στο Yale Center for Thoracic Aortic Disease) έδειξαν ότι η ανευρυσματική ανιούσα θωρακική αορτή μεγαλώνει κατά μέσο όρο 0.1cm κατ' έτος, ενώ η κατιούσα μεγαλώνει κατά κάποιο ρυθμό μεγαλύτερο (εικόνα 2-19). Με βάση αυτά τα στοιχεία ένα ανεύρυσμα της θωρακικής αορτής μπορεί να χρειαστεί δεκαετίες ώσπου να φτάσει σε μεγάλο μέγεθος που να έχει κλινική σημασία.

Εικόνα 2-19. Ρυθμός αύξησης της θωρακικής αορτής.



Πόσο συχνά θα πρέπει να απεικονίζονται οι ασθενείς με ανευρύσματα της θωρακικής αορτής; Λόγω της σχετικά αργής αύξησης της διαμέτρου των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής η απεικόνιση θα πρέπει να γίνεται σε αραιά διαστήματα. Είναι σπάνιο για έναν ασθενή να χρειαστεί απεικόνιση παραπάνω από μία

φορά κατ' έτος και στην κλινική πράξη κάθε ασθενής εξετάζεται με αξονική τομογραφία μία φορά κάθε 1 με 2 έτη (πίνακας 2-4).²⁹

Πίνακας 2-4. Πρωτόκολλο παρακολούθησης ασθενών με ανεύρυσμα θωρακικής αορτής με τη χρήση απεικονιστικών εξετάσεων.

Table V. Surveillance imaging guidelines for asymptomatic TAD

Etiology/Location	Size	Time Interval/Modality
Root or Ascending Aorta		
• Degenerative	3.5-4.4cm	Annual CT or MRI Echocardiogram to follow valve disease (if needed)
	4.5-5.4cm	Biannual CT or MRI Echocardiogram to follow valve disease (if needed)
Root or Ascending Aorta	3.5-4.4cm	Annual CT or MRI Echocardiogram to follow valve disease (if needed)
• Marfan syndrome • Bicuspid Aortic Valve • Other genetically mediated disorder	4.5-5.0cm	Biannual CT or MRI*

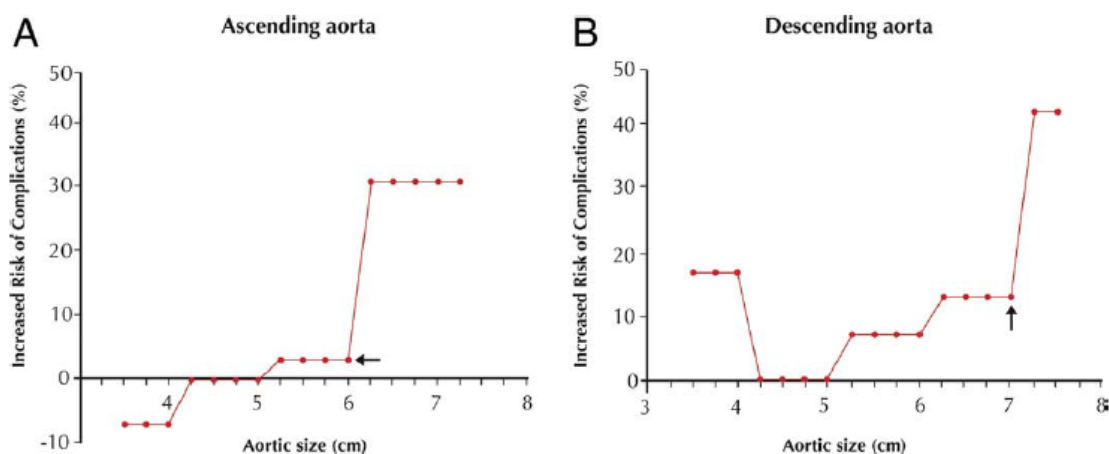
*Accelerated growth: If growth rate >0.5cm/year but size is <5.0cm then consider early operative repair.

Εξαιρετικά γρήγορη αύξηση της διαμέτρου του ανευρύσματος της θωρακικής αορτής, με ταυτόχρονη απουσία εμφάνισης αορτικού διαχωρισμού είναι εξαιρετικά σπάνια και στις περισσότερες περιπτώσεις οφείλεται σε λάθος μετρήσεις. Ένα συχνό λάθος μέτρησης είναι η μέτρηση κατά μήκος μίας πλάγιας τομής της αορτής (όπως είναι το αορτικό τόξο ή η περιοχή κοντά στο διάφραγμα, όπου ένα εκτατικό τμήμα της αορτής συνήθως εμφανίζει μία δεξιά στροφή) (εικόνες 2-13 και 2-14). Πιο σημαντική διαδικασία όμως και από αυτή καθεαυτή την απεικόνιση είναι η υπενθύμιση του κλινικού ιατρού να συγκρίνει την τρέχουσα εξέταση με την αμέσως προηγούμενη. Ο πιο εύκολος τρόπος να συγκριθεί η παρούσα εξέταση με την προηγούμενη δεν έχει καθοριστεί και μάλλον σπάνια γίνεται με λεπτομέρεια και συχνά ο κλινικός ιατρός που δεν αφιερώνει τον απαιτούμενο χρόνο να συγκρίνει τις δύο εξετάσεις δεν αντιλαμβάνεται τις μικρές διαφορές όπως ακριβώς ένας γονιός που δεν αντιλαμβάνεται το πόσο μεγαλώνει το παιδί του εξαιτίας της συχνής παρατήρησής του.⁶² Το μεγάλο λάθος που γίνεται από τους κλινικούς ιατρούς είναι ότι δεν βρίσκουν το χρόνο να φορτώσουν τις εξετάσεις σε δύο διπλανούς υπολογιστές ή ακόμα δεν ζητούν από τους ασθενείς να προσκομίσουν προηγούμενες εξετάσεις που έχουν πραγματοποιηθεί σε

άλλα διαγνωστικά κέντρα. Όλες αυτές οι αδυναμίες οδηγούν τελικά σε υποεκτίμηση του συνολικού ρυθμού αύξησης της διαμέτρου του ανευρύσματος.

Πότε η ανευρυσματική θωρακική αορτή θα διαχωριστεί ή θα διαρραγεί; Σ' αυτή την περίπτωση είναι αξιοσημείωτη η καθαρότητα των διαγραμμάτων που προέκυψε από την ανάλυση μεγάλου αριθμού ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής και στην πραγματικότητα προέκυψε ένα συγκεκριμένο οξύ σημείο αλλαγής της καμπύλης στο διάγραμμα που απεικόνιζε το μέγεθος του ανευρύσματος σε σχέση με τον κίνδυνο διαχωρισμού ή ρήξης. Κατ' αυτόν τον τρόπο βρέθηκε ότι η θωρακική αορτή διαχωρίζεται ή ρηγνύεται στα 6cm. Στην εικόνα 2-20 φαίνεται η απότομη αλλαγή στη φυσική ιστορία των επιπλοκών (διαχωρισμός ή ρήξη) που συμβαίνει στα 6cm για την ανιούσα θωρακική αορτή και σε κάπως μεγαλύτερη διάμετρο για την κατιούσα θωρακική αορτή.^{28,37} Αυτά τα διαγράμματα απεικονίζουν το σωρευτικό κίνδυνο κατά τη διάρκεια της ζωής για εμφάνιση διαχωρισμού ή ρήξης ανάλογα με τη διάμετρο του ανευρύσματος.

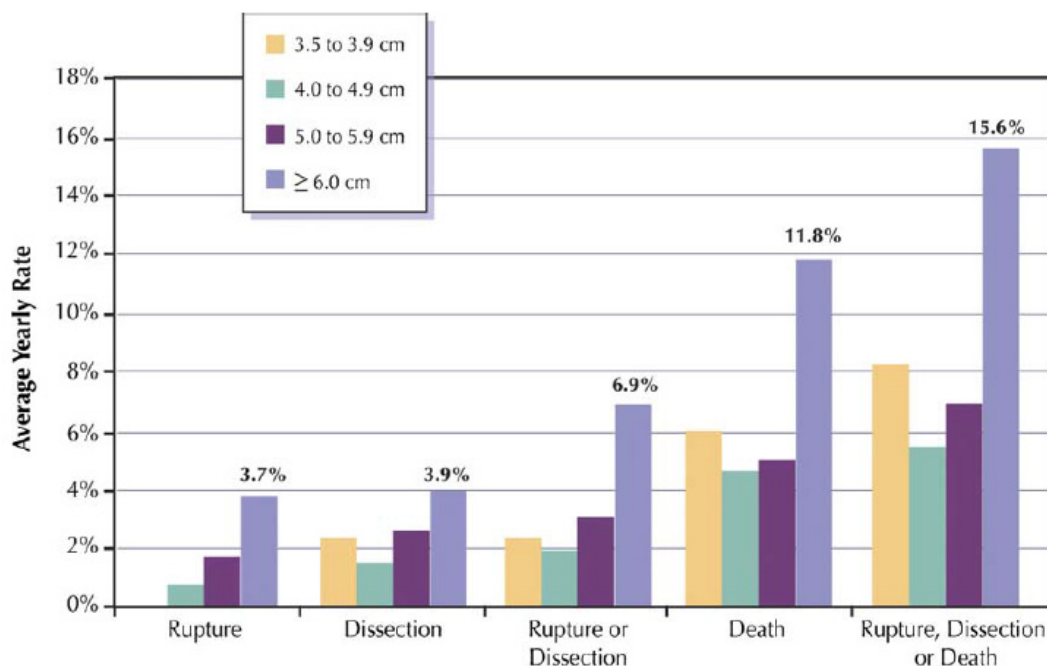
Εικόνα 2-20. Επιπλοκές των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής ανάλογα με τη διάμετρο του ανευρύσματος.



Ποιος είναι ο ετήσιος κίνδυνος διαχωρισμού ή ρήξης των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής; Ο ετήσιος κίνδυνος διαχωρισμού, ρήξης ή θανάτου των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής αποτελεί μία άλλη σημαντική παράμετρο για τον ασθενή και τον κλινικό ιατρό. Τέτοιοι προσδιορισμοί ήταν δύσκολο να γίνουν μέχρι πρόσφατα επειδή απαιτούν πολλά δεδομένα για κάθε διάμετρο ανευρύσματος. Τα αποτελέσματα μίας τέτοιας ανάλυσης παρουσιάζονται στην εικόνα 2-21. Φαίνεται κατ'

αρχήν ότι υπάρχει μία σταδιακή αύξηση του ετήσιου κινδύνου των επιπλοκών του ανευρύσματος της θωρακικής αορτής, καθώς η διάμετρος της αορτής μεγαλώνει με την πιο δραματική αύξηση των ποσοστών σε ανευρύσματα που ξεκινούν από 6cm. Έτσι στα 6cm ο ετήσιος κίνδυνος διαχωρισμού, ρήξης ή θανάτου στα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής ανέρχεται στο σημαντικό ποσοστό του 15.6%.^{28,37}

Εικόνα 2-21. Απεικονίζεται ο ετήσιος κίνδυνος επιπλοκών και θανάτου των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής ανάλογα με τη διάμετρο του ανευρύσματος.



Ποια είναι τα κριτήρια που καθορίζουν τις ενδείξεις για επεμβατική αντιμετώπιση των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής; Η φυσική ιστορία και η εξέλιξη των ανευρυσμάτων όπως παρουσιάστηκε παραπάνω επιτρέπει την απαρίθμηση κριτηρίων βασισμένα σε δεδομένα από κλινικές μαρτυρίες για το πότε πρέπει ο χειρουργός να επεμβαίνει εκλεκτικά ώστε να αντιμετωπίζει τα ανευρύσματα και να προλαμβάνονται ο διαχωρισμός, η ρήξη και ο θάνατος. Σε ασθενείς χωρίς σημαντική συνοσηρότητα, το ανεύρυσμα της ανιούσας θωρακικής αορτής πρέπει να αντικαθίσταται πριν φτάσει σε διάμετρο τα 6cm. Έτσι στην κλινική πράξη το ανεύρυσμα αντικαθίσταται όταν η διάμετρος του φτάσει τα 5.5cm, έτσι ώστε να διασφαλιστεί ένα ασφαλές όριο πριν εισέλθει το ανεύρυσμα στη ζώνη με τα υψηλότερα ποσοστά επιπλοκών (εικόνες 2-20 και 2-21). Κι ενώ αυτά ισχύουν για τα σποραδικά

Εικόνα 2-22. Προτεινόμενος αλγόριθμος αντιμετώπισης ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής.

The Yale Center for Thoracic Aortic Disease Recommended Surgical Intervention Criteria for Thoracic Aortic Aneurysms

- | | |
|---|---|
| <ol style="list-style-type: none"> 1. Rupture 2. Acute aortic dissection <ol style="list-style-type: none"> a. Ascending requires urgent operation b. Descending requires a "complication-specific approach"²⁸ 3. Symptomatic states <ol style="list-style-type: none"> a. Pain consistent with rupture and unexplained by other causes b. Compression of adjacent organs, especially trachea, esophagus, or left main stem bronchus c. Significant aortic insufficiency in con- | <ol style="list-style-type: none"> junction with ascending aortic aneurysm 4. Documented enlargement <ol style="list-style-type: none"> a. growth ≥ 1 cm/yr or substantial growth and aneurysm is rapidly approaching absolute size criteria 5. Absolute size (cm) |
|---|---|
-
- | | Marfan's | Non-Marfan's |
|------------|----------|--------------|
| Ascending | 5.0 cm | 3.5 cm |
| Descending | 6.0 cm | 6.5 cm |

Πίνακας 2-5. Κριτήρια επεμβατικής αντιμετώπισης ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής.

Table IV. Size criteria for elective surgical intervention

Condition	Location and size
• Degenerative thoracic aneurysm • Chronic aortic dissection* • Chronic traumatic dissection/ Pseudoaneurysm* • Intramural hematoma* • Penetrating ulcer*	• Ascending aorta or arch >5.5 cm or Descending aorta > 6 cm
• Marfan Syndrome • Vascular Ehlers Danlos • Turner Syndrome • Bicuspid aortic valve • Familial TAA and dissection	• Ascending 4.0-5.0 cm or Descending ≥ 5.5 cm
• Loeys Dietz syndrome	Any site • 4.2 cm by TEE (internal diameter) • >4.4–4.6 cm by CT/MRI (external diameter)
• Any patient with a growth rate of >0.5 cm/year	Any site • Consider operation at size >5.0–5.5 cm
• Patients undergoing aortic valve repair or replacement	• Consider concomitant aortic root or ascending replacement if >4.5 cm

* Most typical location is in the descending aorta.

Ποιος είναι ο ρόλος του μεγέθους του σώματος (επιφάνεια σώματος); Μία απλοϊκή προσέγγιση του θέματος μπορεί να συνοψιστεί στο ότι ένας άνδρας με ύψος 190cm αναμένεται να έχει φυσιολογικά μεγαλύτερης διαμέτρου αορτή από μία γυναίκα με ύψος 150cm. Συνεπώς έχουν πλέον δημοσιευτεί κριτήρια για την αντιμετώπιση των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής λαμβάνοντας υπόψη το μέγεθος του σώματος κάθε ασθενούς. Στην εικόνα 2-23, η επιφάνεια σώματος έχει σημειωθεί και οι πιο πράσινες περιοχές του πίνακα δείχνουν πότε για μία δεδομένη επιφάνεια σώματος ο ετήσιος κίνδυνος επιπλοκών ενός ανευρύσματος της θωρακικής αορτής είναι μεγάλος.

Συνεπώς αυτός ο πίνακας μπορεί με μεγαλύτερη ακρίβεια να καθορίσει τα κριτήρια επέμβασης για ένα ανεύρυσμα της θωρακικής αορτής, πέραν του γενικού κανόνα των 5.5cm.⁶⁰

Εικόνα 2-23. Ο κίνδυνος επιπλοκών των ανευρυσμάτων της ανιούσας αορτής με βάση την επιφάνεια σώματος.

BSA	Aortic size (cm)									
	3.5	4.0	4.5	5.0	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5	8.0
1.30	2.69	3.08	3.46	3.85	4.23	4.62	5.00	5.38	5.77	6.15
1.40	2.50	2.86	3.21	3.57	3.93	4.29	4.64	5.00	5.36	5.71
1.50	2.33	2.67	3.00	3.33	3.67	4.00	4.33	4.67	5.00	5.33
1.60	2.19	2.50	2.80	3.13	3.44	3.75	4.06	4.38	4.69	5.00
1.70	2.05	2.35	2.65	2.94	3.24	3.53	3.82	4.12	4.41	4.71
1.80	1.94	2.22	2.50	2.78	3.06	3.33	3.61	3.89	4.17	4.44
1.90	1.84	2.11	2.37	2.63	2.89	3.16	3.42	3.68	3.95	4.22
2.00	1.75	2.00	2.25	2.50	2.75	3.00	3.25	3.50	3.75	4.00
2.10	1.67	1.90	2.14	2.38	2.62	2.86	3.10	3.33	3.57	3.80
2.20	1.59	1.82	2.05	2.27	2.50	2.72	2.95	3.18	3.41	2.64
2.30	1.52	1.74	1.96	2.17	2.39	2.61	2.83	3.04	3.26	3.48
2.40	1.46	1.67	1.88	2.08	2.29	2.50	2.71	2.92	3.13	3.33
2.50	1.40	1.60	1.80	2.00	2.20	2.40	2.60	2.80	3.00	3.20

= low risk (~4% per yr)
 = moderate risk (~8% per yr)
 = severe risk (~20% per yr)

Η σημασία της πρόληψης εμφάνισης διαχωρισμού της ανευρυσματικής θωρακικής αορτής για την απώτερη επιβίωση του ασθενή. Η πιστή εφαρμογή των παραπάνω κριτηρίων αντιμετώπισης των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής θα προλάβει τη μεγάλη πλειονότητα της εμφάνισης διαχωρισμού ή ρήξης. Σ' αυτό το σημείο είναι εξαιρετικά σημαντικό να γνωρίζουν τόσο οι ιατροί όσο και οι ασθενείς ότι εάν ένας ασθενής εμφανίσει διαχωρισμό και επιζήσει η πρόγνωση του είναι χειρότερη του ασθενούς με αντικατάσταση του ανευρύσματος της θωρακικής αορτής. Η διαχωρισμένη αορτή αυξάνει σε διάμετρο πολύ πιο γρήγορα σε σχέση με τη φυσιολογική αορτή και γενικά είναι επιδημιολογικά αποδεδειγμένο ότι οι ασθενείς με διαχωρισμένη αορτή λόγω ανευρύσματος της θωρακικής αορτής ζουν λιγότερα χρόνια από ότι οι ασθενείς με μη διαχωρισμένα ανευρύσματα.⁵⁸

Τι συμβαίνει με τους ασθενείς που παρουσιάζουν θωρακικό άλγος που σχετίζεται με το ανεύρυσμα της θωρακικής αορτής; Υπάρχει ένα σημείο το οποίο πρέπει να τονιστεί με μεγάλη έμφαση, ότι δηλαδή τα κριτήρια που αναλύθηκαν παραπάνω για την αντιμετώπιση των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής βρίσκουν εφαρμογή μόνο σε ασυμπτωματικούς ασθενείς. Τα συμπτωματικά ανευρύσματα της θωρακικής αορτής πρέπει να αντιμετωπίζονται χειρουργικά ανεξαρτήτως μεγέθους.⁶³ Η παρουσία συμπτωμάτων κάθε άλλο παρά αθώα πρέπει να θεωρείται δεδομένου ότι προμηνύει ρήξη και συνεπώς επιβάλλει την επεμβατική αντιμετώπιση. Παρόλα αυτά, υπάρχουν πολλές περιπτώσεις που είναι δύσκολο να καθοριστεί εάν τα συμπτώματα σχετίζονται με το ανεύρυσμα ή όχι. Στην κλινική πράξη θα πρέπει να θεωρείται ότι το θωρακικό άλγος σχετίζεται με το ανεύρυσμα της θωρακικής αορτής εκτός εάν υπάρχει άλλη εμφανής αιτία στην οποία μπορεί τεκμηριωμένα να αποδοθεί ο πόνος.

2.14 Τι προκαλεί ανεύρυσμα της θωρακικής αορτής;

Τα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής μπορούν να χωριστούν σε σποραδικά, σε αυτά που σχετίζονται με την ύπαρξη δίπτυχης αορτικής βαλβίδας, σε οικογενή και σε αυτά που σχετίζονται με κάποιο σύνδρομο όπως Marfan, Ehlers-Danlos και Loeys-Dietz. Στην παρούσα διδακτορική διατριβή εξετάστηκαν τα σποραδικά ανευρύσματα και τα ανευρύσματα που σχετίζονται με δίπτυχη αορτική βαλβίδα που είναι και τα πιο συχνά. Τα ανευρύσματα που οφείλονται στο σύνδρομο Marfan έχουν μελετηθεί σε βάθος και το πρόβλημα οφείλεται σε μεταλλάξεις στο γονίδιο της φιμπριλλίνης. Τα κλινικά κριτήρια διάγνωσης του συνδρόμου Marfan φαίνονται στον πίνακα 2-6. Το πρόβλημα στο σύνδρομο Ehlers-Danlos οφείλεται στο γονίδιο του κολλαγόνου III και στο σύνδρομο Loeys-Dietz στους υποδοχείς 1 και 2 του TGF-β.⁶⁴⁻⁷¹

Πίνακας 2-6. Τα πλέον πρόσφατα κριτήρια διάγνωσης του συνδρόμου Marfan από το Πανεπιστήμιο του Ghent.

The new Ghent criteria

Diagnostic criteria

In the absence of family history

Ao ($Z \geq 2$) and

FBN1 = MFS

EL = MFS

Syst (≥ 7 pts) = MFS

EL with or without Syst and

FBN1 with known Ao = MFS

FBN1 not known with Ao or no *FBN1* = ELS

Ao ($Z < 2$) and Syst (≥ 5) without EL = MASS

MVP and Ao ($Z < 2$) AND Syst (< 5) without EL = MVPS

In the presence of family history:

Ao ($Z \geq 2$ above 20 years old, ≥ 3 below 20 years) = MFS

EL = MFS

Syst (≥ 7 pts) = MFS

Systemic score (maximum total: 20 points; score ≥ 7 indicates systemic involvement)

Pectus

Carinatum: **2**

Excavatum or chest asymmetry: **1**

Wrist and thumb sign: **3**

Wrist or thumb sign: **1**

Scoliosis or thoracolumbar kyphosis: **1**

No severe scoliosis and US/LS and arm span/height: **1**

Protrusio acetabuli: **2**

Elbow extension: **1**

Hindfoot deformity: **2**

Plain pes planus: **1**

Facial features (3/5): **1**

Dolichocephaly, enophthalmos, downslanting palpebral fissures, malar hypoplasia, retrognathia

Dural ectasia: **2**

Pneumothorax: **2**

Skin striae: **1**

Myopia > 3 diopters: **1**

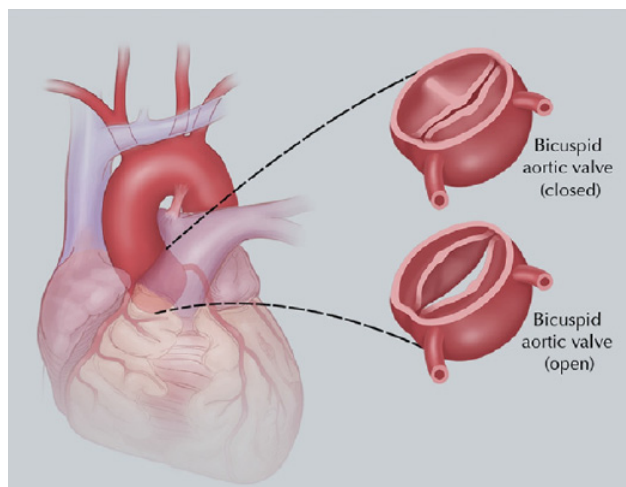
Mitral valve prolapse (all types): **1**

Ao—aortic dilatation; *FBN1*—mutation in the *FBN1* gene; EL—ectopia lentis; ELS—ectopia lentis syndrome; MFS—Marfan syndrome; MVP—mitral valve prolapse; Syst—systemic score.

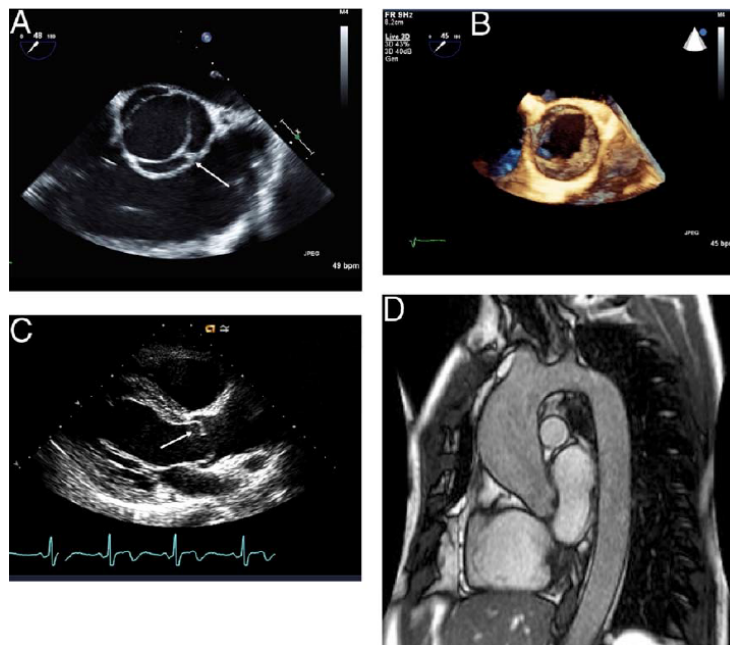
Όσον αφορά τα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής που συνοδεύονται από δίπτυχη αορτική βαλβίδα (εικόνα 2-24) πρέπει να γίνει κατανοητό ότι οι ασθενείς με δίπτυχη αορτική βαλβίδα έχουν δομικά επηρεασμένα ανιούσα θωρακική αορτή η οποία είναι επιρρεπής στην εμφάνιση ανευρύσματος (εικόνα 2-25) ή διαχωρισμού.⁷²⁻⁸³ Μερικοί ασθενείς με δίπτυχη αορτική βαλβίδα μπορεί να έχουν και στένωση ισθμού της αορτής στα πλαίσια αυτής της συγγενούς ανωμαλίας. Είναι σημαντικό να γνωρίζουν οι κλινικοί ιατροί ότι ο διαχωρισμός της θωρακικής αορτής σε ασθενείς με δίπτυχη αορτική βαλβίδα μπορεί να εμφανιστεί πολύ πριν την εμφάνιση

στένωσης της αορτικής βαλβίδας που θα γίνει αντιληπτή από την συμπτωματολογία της. Η ύπαρξη δίπτυχης αορτικής βαλβίδας αποτελεί μία σημαντική αιτία αορτικής νόσου (πίνακας 2-7). Επειδή η δίπτυχη αορτική βαλβίδα είναι αρκετά συχνή συγγενής ανωμαλία (η πιο συχνή που αφορά στο 1-2% του γενικού πληθυσμού) ευθύνεται για περισσότερους διαχωρισμούς της θωρακικής αορτής από ότι το σύνδρομο Marfan, το οποίο έχει συχνότητα 1 στις 10.000 γενικού πληθυσμού (πίνακας 2-7).

Εικόνα 2-24. Δίπτυχη αορτική βαλβίδα.



Εικόνα 2-25. Ασθενής με δίπτυχη αορτική βαλβίδα και ανεύρυσμα ανιούσας θωρακικής αορτής.



Πίνακας 2-7. Δίπτυχη αορτική βαλβίδα και αορτική νόσος.

TABLE 2. Comparison of epidemiology of Marfan's disease (MFD) and bicuspid (BAV) aortic valve, with special reference to number of cases of aortic dissection brought on by disease

Aortic manifestations of connective tissue disease		
	Incidence	Likelihood of aortic dissection
Marfan's syndrome	0.01% (1 in 10,000)	40%
Bicuspid aortic valve	1–2%	5%

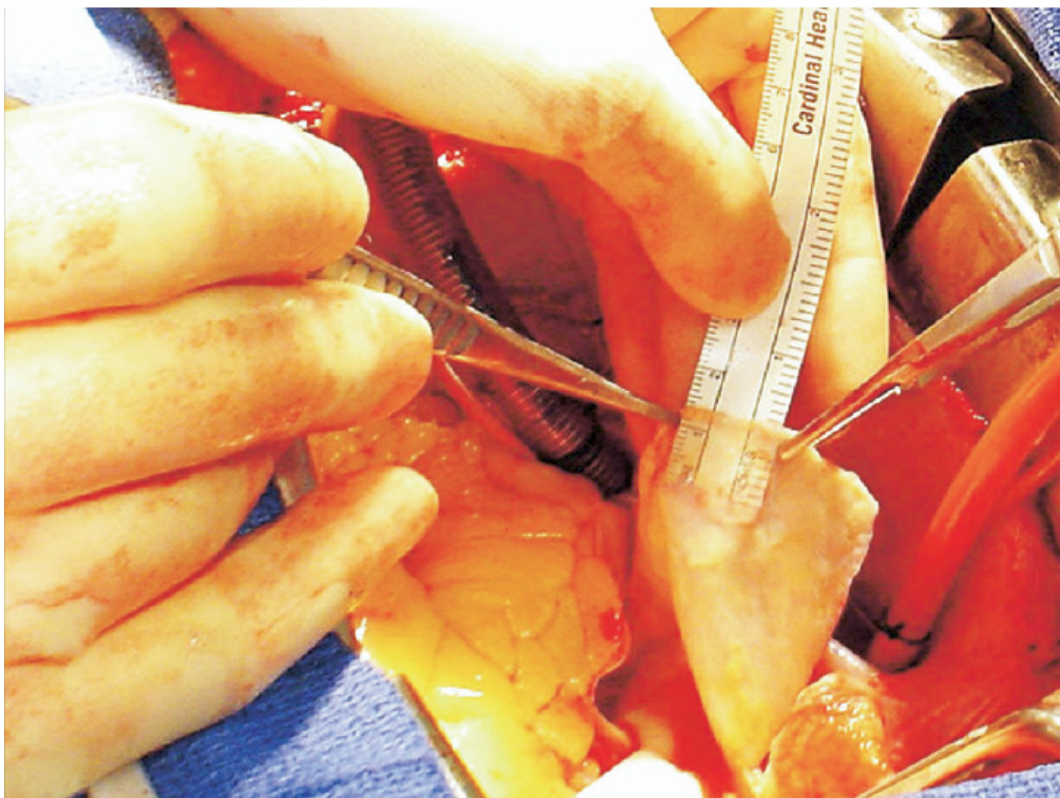
Note: Bicuspid aortic valve causes many more cases of aortic dissection than Marfan's disease.

Note that BAV causes 25 times more acute aortic dissections than MFD.

Dissection usually occurs long before onset of significant aortic stenosis.

Μοριακή παθοφυσιολογία. Με δεδομένο το γεγονός ότι σε πολλούς ασθενείς μία γενετική μετάλλαξη αποτελεί το έναυσμα για την ανάπτυξη του ανευρύσματος της θωρακικής αορτής το ερώτημα που μένει να απαντηθεί είναι πως αυτή η γενετική ανωμαλία καταλήγει στην εμφάνιση ανευρύσματος. Ενώ η αρχική διεργασία ξεκινάει από τη γενετική ανωμαλία, έχει βρεθεί ότι υπάρχουν συγκριμένα λυτικά ένζυμα που είναι γνωστά ως μεταλλοπρωτεϊνάσες τα οποία στην ουσία κάνουν όλη τη ζημιά στο αορτικό τοίχωμα.⁸⁴ Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες αποδομούν τις δομικές πρωτεΐνες του αορτικού τοιχώματος. Αυτά τα ένζυμα παραμένουν κανονικά αδρανοποιημένα και ελέγχονται από τους ιστικούς αναστολείς των μεταλλοπρωτεϊνών. Έχει δειχθεί ότι στα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής υπάρχει αυξημένη δραστηριότητα των μεταλλοπρωτεϊνών.⁸⁵⁻⁹² Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες 1, 2, 3, 9, 12 και 13 όπως και οι ιστικοί αναστολείς τους εμπλέκονται στην παθογένεση της ανευρυσματικής νόσου της θωρακικής αορτής. Σήμερα πιστεύεται ότι οι ασθενείς που εμφανίζουν ανευρύσματα είναι γενετικά προκαθορισμένο να έχουν σε κάποια φάση της ζωής τους πολύ αυξημένη δραστηριότητα μεταλλοπρωτεϊνών, γεγονός που οδηγεί σε αποδόμηση και λεπυνση του αορτικού τοιχώματος (εικόνα 2-26).

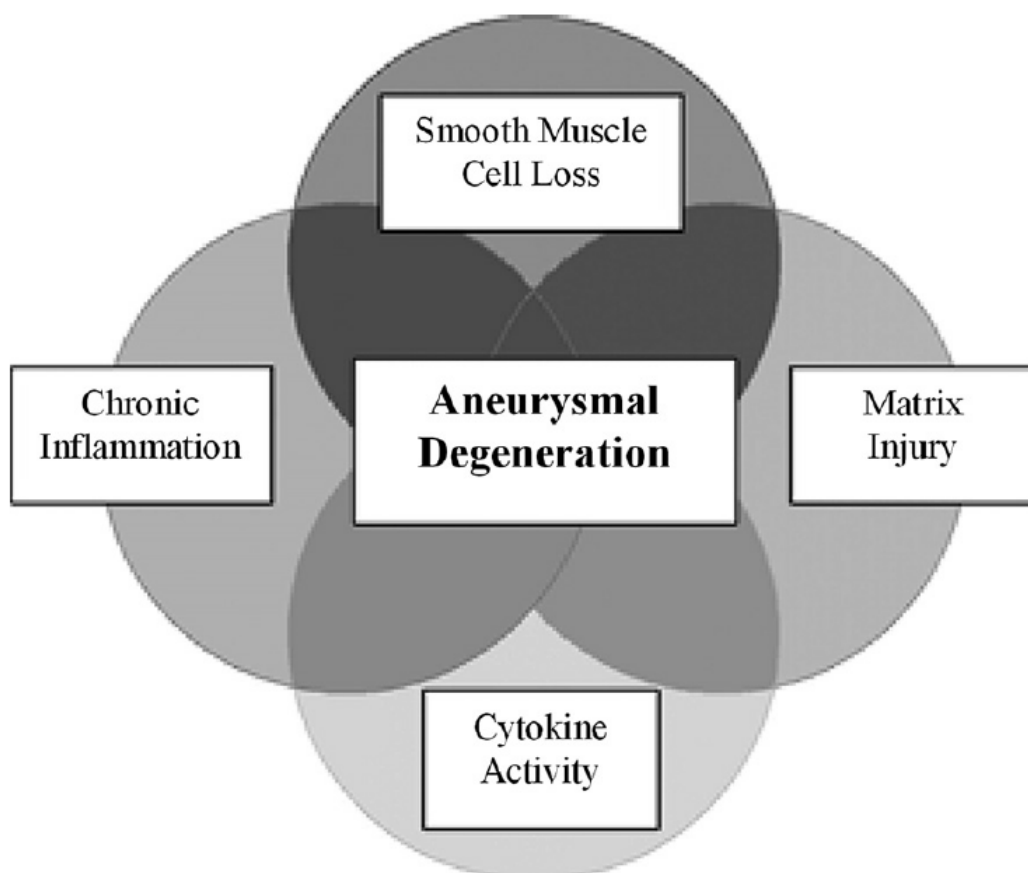
Εικόνα 2-26. Πολύ εμφανής λέπτυνση του τοιχώματος της ανευρυσματικής ανιούσας θωρακικής αορτής.



Τα ερευνητικά δεδομένα όμως συνηγορούν ότι οι μεταλλοπρωτεΐνάσες αποτελούν μία μόνο πτυχή του μοριακού μηχανισμού που οδηγεί στην εμφάνιση ανευρυσμάτων και στην αύξηση του μεγέθους τους. Η παθογένεση των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής περιλαμβάνει τέσσερις καθοριστικές και θεμελιώδεις διεργασίες: την πρωτεόλυση της θεμέλιας εξωκυττάριας ουσίας όπως αναλύθηκε παραπάνω, τη χρόνια φλεγμονή, τη δραστηριότητα κυττοκινών και την απώλεια των λείων μυϊκών κυττάρων. Αυτές οι τέσσερις διεργασίες καταστρέφουν την ακεραιότητα του αορτικού τοιχώματος και καθορίζουν το στάδιο της εμφάνισης του ανευρύσματος, της ανάπτυξής του και τελικά της ρήξης του. Τα φλεγμονώδη κύτταρα που συμμετέχουν στη δημιουργία ανευρυσμάτων περιλαμβάνουν τα μονοκύτταρα, τα μακροφάγα, τα πλασματοκύτταρα, τα Β-λεμφοκύτταρα και τα Τ-λεμφοκύτταρα.^{93,94} Οι κυττοκίνες που συμβάλλουν στη καταστροφή πρωτεϊνών της θεμέλιας εξωκυττάριας ουσίας του μέσου χιτώνα περιλαμβάνουν την IL-1β, IL-6, IL-8 και INF-γ.⁹⁵ Ο TGF-β έχει επίσης ενοχοποιηθεί.⁹⁶ Τα λεία κύτταρα είναι επιφορτισμένα με την επιδιόρθωση

των κατεστραμμένων πρωτεϊνών του αορτικού τοιχώματος, και τα πειραματικά δεδομένα δείχνουν ξεκάθαρα ότι στους ασθενείς με ανευρύσματα, τα λεία μυϊκά κύτταρα έχουν σαφώς απωλέσει αυτόν το ρόλο τους. Τα λεία μυϊκά κύτταρα της ανευρυσματικής αορτής έχουν τριπλάσια ποσοστά απόπτωσης και επιπλέον έχουν επηρεασμένη ικανότητα ανάπτυξης και ωρίμανσης.⁹⁷⁻¹⁰⁰ Όλοι αυτοί οι μηχανισμοί απεικονίζονται στην εικόνα 2-27.

Εικόνα 2-27. Μηχανισμοί που δρουν με συνέργεια στην αλλοίωση του αορτικού τοιχώματος και στο σχηματισμό ανευρυσμάτων στη θωρακική αορτή.



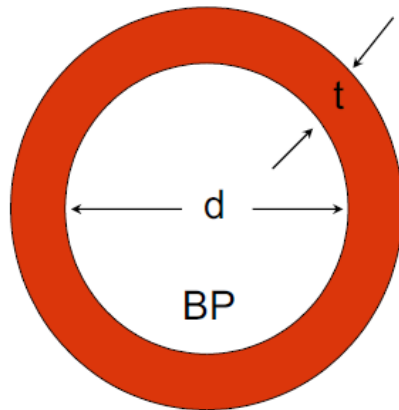
2.15 Μηχανικές ιδιότητες της θωρακικής αορτής

Έχουν εφαρμοστεί αναλύσεις μηχανικού τύπου ώστε να μελετηθεί η ανευρυσματική θωρακική αορτή. Όπως φαίνεται στην εικόνα 2-28 οι φυσιολογικές μηχανικές ιδιότητες της αορτής μπορούν να καθοριστούν με τη μέτρηση έξι ειδικών παραμέτρων: της αορτικής διαμέτρου στη συστολή και τη διαστολή, το πάχος του αορτικού τοιχώματος στη συστολή και τη διαστολή και την αορτική αρτηριακή πίεση στη συστολή και τη διαστολή. Στο Yale Center for Thoracic Aortic Disease αναπτύχθηκε ένα σύστημα για τη μέτρηση των μηχανικών ιδιοτήτων της ανευρυσματικής αορτής στους ανθρώπους με τη χρήση επι-αορτικού υπέρηχου κατά τη στιγμή της εκτομής του ανευρύσματος (εικόνα 2-29).¹⁰¹ Αυτές οι in vivo μετρήσεις έχουν δείξει ότι στα ανευρύσματα διαμέτρου 6cm, η αορτή χάνει τη φυσιολογική της ελαστικότητα, γεγονός που έχει ως συνέπεια, η δύναμη της συστολής να μην μπορεί να διαχυθεί στην εκπτυσσόμενη αορτή. Εκείνο που τελικά συμβαίνει σ' αυτές τις μεγάλες διαστάσεις της αορτής είναι ότι η δύναμη της συστολής έχει την τάση να διαταράσσει τη μη διατατή ανευρυσματική αορτή (εικόνα 2-30). Όταν η αρτηριακή πίεση αυξάνεται μαζί με τη διάταση της αορτής, η τάση που αναπτύσσεται στο αορτικό τοίχωμα πλησιάζει με την τελική δύναμη αντοχής των ιστών της ανθρώπινης αορτής (εικόνα 2-31).^{28,37}

Αυτές οι μελέτες μηχανικής καταλήγουν στο ότι η απώλεια των φυσιολογικών μηχανικών ιδιοτήτων της αορτής και η επιδείνωση αυτής της κατάστασης αποτελεί την αιτία της κακοήθους κλινικής συμπεριφοράς της σημαντικά ανευρυσματικής θωρακικής αορτής, και αυτά τα ευρήματα συνδυάζονται με τις παρατηρήσεις ότι ο διαχωρισμός και η ρήξη συμβαίνουν σε διαμέτρους αορτής γύρω στα 6cm. Κατ' αυτόν τον τρόπο εξηγείται και επιβεβαιώνεται πειραματικά η κλινική συμπεριφορά των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής.

Εικόνα 2-28. Παράμετροι προσδιορισμού των μηχανικών ιδιοτήτων της ανευρυσματικής ανιούσας αορτής.

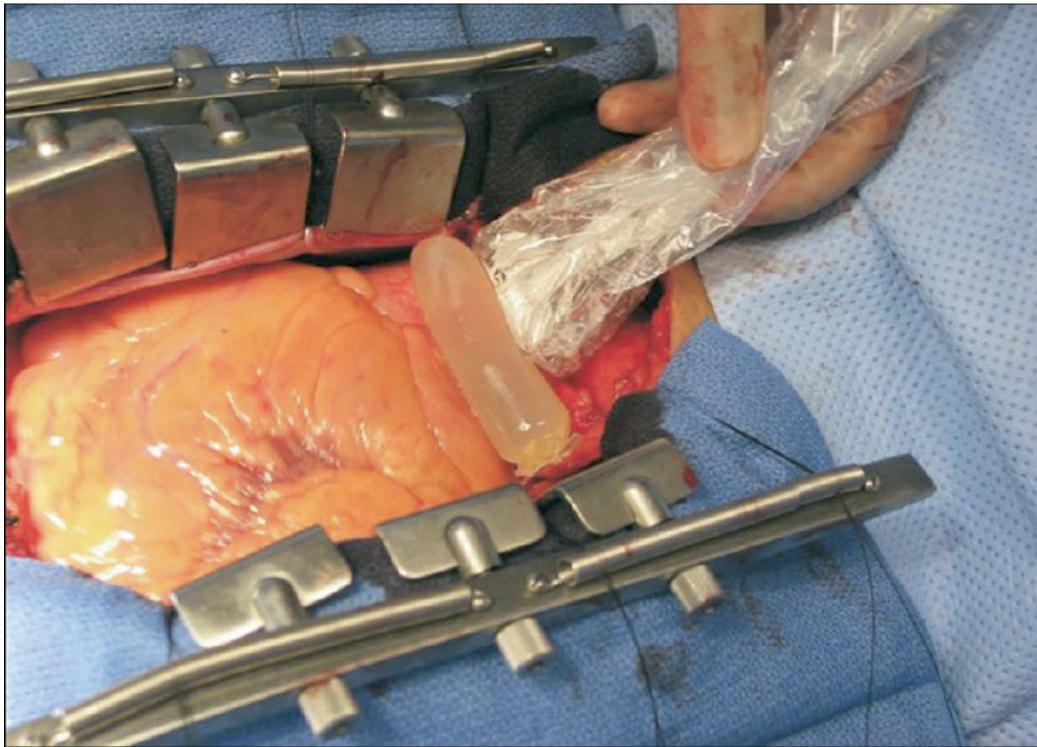
Mechanical properties of the aneurysmal human ascending aorta



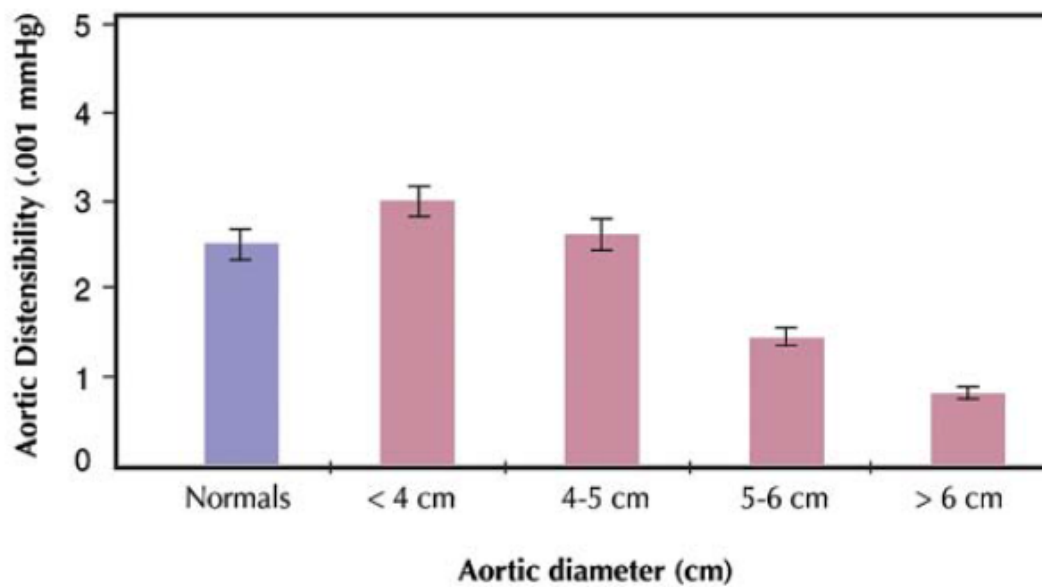
All mechanical characteristics can be calculated on the basis of six parameters:

	systole	diastole
d	✓	✓
t	✓	✓
BP	✓	✓

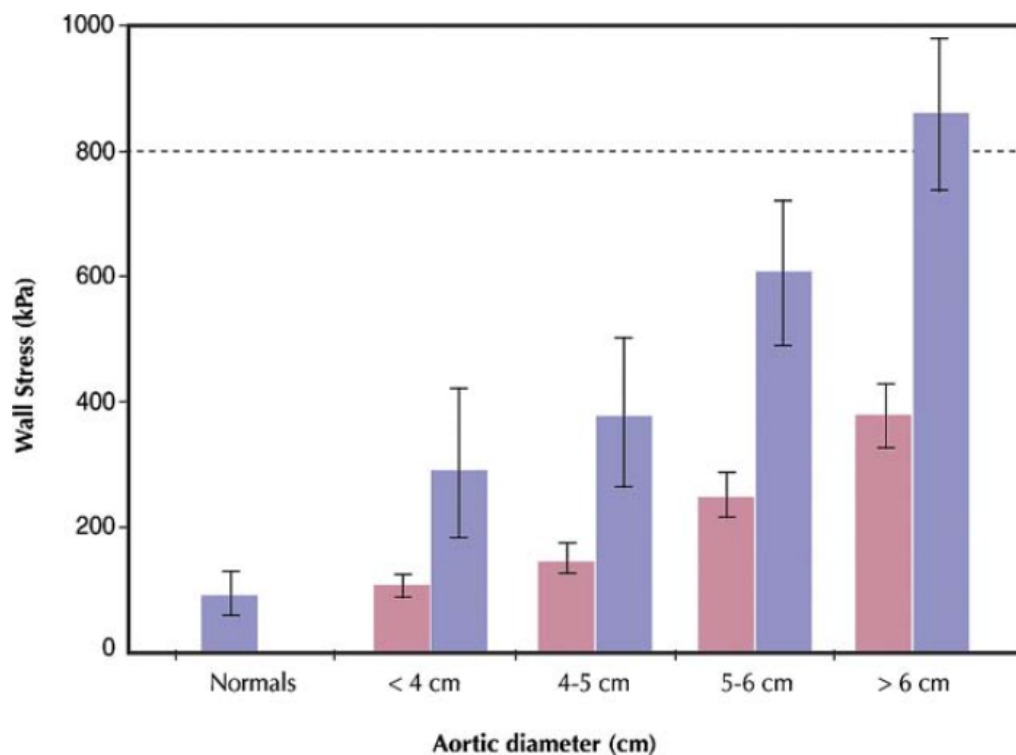
Εικόνα 2-29. Επιαορτικό διεγχειρητικό υπερηχογράφημα.



Εικόνα 2-30. Τιμές διατασιμότητας της ανιούσας θωρακικής αορτής σε σχέση με τη διάμετρο της αορτής.



Εικόνα 2-31. Απεικονίζεται η τοιχωματική δύναμη που αναπτύσσεται στην ανιούσα θωρακική αορτή ανάλογα με τη διάμετρο αυτής και αναδεικνύεται η εκθετική σχέση μεταξύ τους.



2.16 Σύγχρονες (2013) κατευθυντήριες οδηγίες για τα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής

Οι κατευθυντήριες οδηγίες που προτείνονται για την αντιμετώπιση των ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής, της δίπτυχης αορτικής βαλβίδας και του οξέως διαχωρισμού της ανιούσας θωρακικής αορτής δημοσιεύτηκαν το 2013¹⁰² και αποτελούν προϊόν συλλογικής εργασίας καρδιοχειρουργών και καρδιολόγων, με σκοπό την επικαιροποίηση των κατευθυντήριων οδηγιών για την αντιμετώπιση των βαλβιδοπαθειών της καρδιάς που δημοσιεύτηκαν το 2008¹⁰³ καθώς και των κατευθυντήριων οδηγιών για τη διάγνωση και αντιμετώπιση ασθενών με παθήσεις της θωρακικής αορτής που δημοσιεύτηκαν το 2010.¹⁰⁴ Η επεξήγηση των ενδείξεων είναι με βάση τον πίνακα 2-8.

Πίνακας 2-8. Επεξήγηση ενδείξεων κατευθυντήριων οδηγιών.

		SIZE OF TREATMENT EFFECT →			
		CLASS I <i>Benefit >>> Risk</i> Procedure/Treatment SHOULD be performed/administered	CLASS IIa <i>Benefit >> Risk</i> Additional studies with <i>focused objectives</i> needed IT IS REASONABLE to perform procedure/administer treatment	CLASS IIb <i>Benefit ≥ Risk</i> Additional studies with <i>broad objectives</i> needed; additional registry data would be helpful Procedure/Treatment MAY BE CONSIDERED	CLASS III <i>Risk ≥ Benefit</i> Procedure/Treatment should NOT be performed/administered SINCE IT IS NOT HELPFUL AND MAY BE HARMFUL
ESTIMATE OF CERTAINTY (PRECISION) OF TREATMENT EFFECT	LEVEL A Multiple populations evaluated* Data derived from multiple randomized clinical trials or meta-analyses	- Recommendation that procedure or treatment is useful/effective - Sufficient evidence from multiple randomized trials or meta-analyses	- Recommendation in favor of treatment or procedure being useful/effective - Some conflicting evidence from multiple randomized trials or meta-analyses	- Recommendation's usefulness/efficacy less well established - Greater conflicting evidence from multiple randomized trials or meta-analyses	- Recommendation that procedure or treatment is not useful/effective and may be harmful - Sufficient evidence from multiple randomized trials or meta-analyses
	LEVEL B Limited populations evaluated* Data derived from a single randomized trial or nonrandomized studies	- Recommendation that procedure or treatment is useful/effective - Evidence from single randomized trial or nonrandomized studies	- Recommendation in favor of treatment or procedure being useful/effective - Some conflicting evidence from single randomized trial or nonrandomized studies	- Recommendation's usefulness/efficacy less well established - Greater conflicting evidence from single randomized trial or nonrandomized studies	- Recommendation that procedure or treatment is not useful/effective and may be harmful - Evidence from single randomized trial or nonrandomized studies
	LEVEL C Very limited populations evaluated* Only consensus opinion of experts, case studies, or standard of care	- Recommendation that procedure or treatment is useful/effective - Only expert opinion, case studies, or standard of care	- Recommendation in favor of treatment or procedure being useful/effective - Only diverging expert opinion, case studies, or standard of care	- Recommendation's usefulness/efficacy less well established - Only diverging expert opinion, case studies, or standard of care	- Recommendation that procedure or treatment is not useful/effective and may be harmful - Only expert opinion, case studies, or standard of care
Suggested phrases for writing recommendations [†]		should is recommended is indicated is useful/effective/beneficial	is reasonable can be useful/effective/beneficial is probably recommended or indicated	may/might be considered may/might be reasonable usefulness/effectiveness is unknown/unclear/uncertain or not well established	is not recommended is not indicated should not is not useful/effective/beneficial may be harmful

Κατευθυντήριες οδηγίες για την ανιούσα θωρακική αορτή:

Class I

1. Όλοι οι ασθενείς με υποψία ανευρύσματος της ανιούσας θωρακικής αορτής στη βάση οικογενειακού ιστορικού, συμπτωματολογίας, ή ενδείξεων επί της κλινικής εξέτασης θα πρέπει να υποβάλλονται σε απεικονιστική εξέταση ολόκληρης της θωρακικής αορτής. (Level of evidence C)
2. Όλοι οι ασθενείς που διαγιγνώσκονται με δίπτυχη αορτική βαλβίδα θα πρέπει να υποβάλλονται σε απεικονιστική εξέταση ολόκληρης της θωρακικής αορτής. (Level of evidence B)
3. Όλοι οι ασθενείς με διάγνωση συνδρόμου Marfan ή Loeys-Dietz ή ανίχνευση μεταλλάξεων που σχετίζονται με αορτική νόσο ή αορτικό διαχωρισμό θα πρέπει να υποβάλλονται σε απεικονιστική εξέταση ολόκληρης της αορτής καθώς και σε κατάλληλες αιματολογικές εξετάσεις για την ανίχνευση γενετικών μεταλλάξεων. (Level of evidence B)
4. Οι συγγενείς πρώτου βαθμού νεαρών ασθενών με δίπτυχη αορτική βαλβίδα ή με γενετική μετάλλαξη που σχετίζεται με νόσο της θωρακικής αορτής θα πρέπει να λαμβάνουν σύσταση να ελέγχονται περαιτέρω. (Level of evidence C)
5. Όλοι οι ασθενείς που προγραμματίζονται για εκλεκτική χειρουργική αντιμετώπιση βαλβιδοπάθειας καρδιάς και έχουν και ταυτόχρονα νόσο στη θωρακική αορτή θα πρέπει να υποβάλλονται σε καρδιακό καθετηριασμό. (Level of evidence B)
6. Πρέπει να γίνεται επιπλέον προεγχειρητικός έλεγχος των ασθενών ώστε να ποσοτικοποιηθεί η συνυπάρχουσα νοσηρότητα τους και να υπολογιστεί η ομάδα κινδύνου στην οποία ανήκουν. Αυτός ο έλεγχος πρέπει να περιλαμβάνει, αξονική τομογραφία θώρακος εάν δεν έχει προηγουμένως γίνει, τεστ ελέγχου λειτουργίας των πνευμόνων, 24ωρη καταγραφή του ηλεκτροκαρδιογραφήματος (Holter), μη επεμβατικός έλεγχος των καρωτίδων, απεικονιστική εξέταση του εγκεφάλου, υπερηχογράφημα καρδιάς, έλεγχος ψυχομετρικής κατάστασης και αξιολόγηση του βαθμού αδυναμίας και ευθραυστότητας. (Level of evidence C)
7. Διεγχειρητική διοισοφάγειος υπερηχογραφία συνιστάται σε όλους τους ασθενείς που χειρουργούνται στη θωρακική αορτή. (Level of evidence C)

8. Χειρουργική αντικατάσταση του ανευρύσματος της ανιούσας θωρακικής αορτής πρέπει να γίνεται όταν η διάμετρος της ανιούσας αορτής είναι πάνω από 5.5cm στην περίπτωση που ο ασθενής δεν έχει κάποια γενετική νόσο που σχετίζεται με νόσο της θωρακικής αορτής και είναι κατάλληλος για χειρουργική θεραπεία. (Level of evidence B)
9. Ασθενείς με γενετικά νοσήματα της αορτής, συμπεριλαμβανομένων αυτών με δίπτυχη αορτική βαλβίδα, πρέπει να χειρουργούνται για ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής όταν η διάμετρος της ανιούσας θωρακικής αορτής είναι πάνω από 5.0cm, εκτός και αν υπάρχει οικογενειακό ιστορικό αορτικού διαχωρισμού, οπότε σ' αυτήν την περίπτωση το όριο μπορεί να κατέβει στα 4.5cm. Επίσης, ασθενείς με λόγο μέγιστης αορτικής επιφάνειας ανιούσας θωρακικής αορτής (π^2 σε cm^2) προς ύψος ασθενούς εκφρασμένο σε m ο οποίος υπερβαίνει την τιμή 10 θα πρέπει να αντιμετωπίζονται χειρουργικά. (Level of evidence B)
10. Σε ασθενείς με ρυθμό αύξησης της διαμέτρου του ανευρύσματος της ανιούσας θωρακικής αορτής πάνω από 0.5cm κατ' έτος θα πρέπει να συστήνεται χειρουργική αντιμετώπιση εφόσον δεν υφίστανται άλλοι περιορισμοί. (Level of evidence B)
11. Οι ασθενείς με διαγνωσμένο σύνδρομο Loeys-Dietz ή επιβεβαιωμένες μεταλλάξεις στα γονίδια TGFBR1 ή TGFBR2 θα πρέπει να αξιολογούνται για χειρουργική αντιμετώπιση όταν η διάμετρος της ανιούσας θωρακικής αορτής υπερβαίνει τα 4.2cm. (Level of evidence C)
12. Ασθενείς που υποβάλλονται σε καρδιοχειρουργικές επεμβάσεις που δεν έχουν σχέση με ενδείξεις αορτικής χειρουργικής, η αντικατάσταση της ανιούσας θωρακικής αορτής πρέπει να γίνεται όταν η διάμετρός της υπερβαίνει τα 4.5cm. (Level of evidence B)
13. Η διάμετρος της ανιούσας θωρακικής αορτής πρέπει να μετριέται σε δεξιές γωνίες σε σχέση με τον άξονα της ροής του αίματος, γεγονός που προϋποθέτει τη χρήση λογισμικού με ικανότητα τρισδιάστατης ανασύστασης. Οι μέγιστες διαμέτροι σε κάθε τμήμα της αορτής πρέπει να αναφέρονται. Το υπερηχογράφημα μπορεί να μετρήσει μόνο τις εσωτερικές διαμέτρους ενώ η αξονική και η μαγνητική τομογραφία μπορούν να μετρήσουν τις εξωτερικές

διαμέτρους, συνεπώς θα πρέπει να συνυπολογίζεται ότι οι μετρήσεις που λαμβάνονται από το υπερηχογράφημα είναι κάπως μικρότερες. (Level of evidence C)

14. Ξεχωριστή αντικατάσταση ανιούσας θωρακικής αορτής και αορτικής βαλβίδας θα πρέπει να γίνεται σε ασθενείς που δεν έχουν σημαντική διάταση της αορτικής ρίζας σε ηλικιωμένους ασθενείς ή σε νεώτερους ασθενείς που έχουν πολύ μικρή διάταση της αορτικής ρίζας και εμφυτεύεται μία βιολογική προσθετική αορτική βαλβίδα ή επιδιορθώνεται μία δίπτυχη αορτική βαλβίδα. (Level of evidence B)
15. Ασθενείς με σύνδρομο Marfan, Loeys-Dietz και Ehlers-Danlos και διάταση της αορτικής ρίζας θα πρέπει να γίνεται αντικατάσταση των κόλπων του Valsava σε συνδυασμό με μία τροποποιημένη επέμβαση David με επανεμφύτευση της ίδιας αορτικής βαλβίδας εάν κάτι τέτοιο είναι εφικτό ή αντικατάσταση της αορτικής ρίζας και της αορτικής βαλβίδας με βαλβιδοφόρο μόσχευμα. (Level of evidence B)
16. Για πιο πολύπλοκες επεμβάσεις που απαιτούν αντικατάσταση του αορτικού τόξου και χρειάζονται χρονικά διαστήματα ολικής κυκλοφορικής παύσης, θα πρέπει να εφαρμόζονται βοηθητικές τεχνικές για την προστασία του εγκεφάλου. (Level of evidence B)

Class IIa

1. Τακτικός έλεγχος με υπερηχογράφημα και εξέταση με αξονική ή μαγνητική τομογραφία μετά τη χειρουργική αντικατάσταση της ανιούσας θωρακικής αορτής μπορεί να γίνεται. (Level of evidence C)

Μετρήσεις ποιότητας

1. Προφυλακτική χορήγηση αντιβιοτικών για Gram θετικούς και αρνητικούς κόκκους θα πρέπει να χορηγείται σε χειρουργικές επεμβάσεις της θωρακικής αορτής.
2. Διεγχειρητικό διοισοφάγειο υπερηχογράφημα πρέπει να γίνεται σε όλους τους ασθενείς με χειρουργικές επεμβάσεις στη θωρακική αορτή.

3. Σε ασθενείς με δίπτυχη αορτική βαλβίδα, σύνδρομα Marfan, Loeys-Dietz και Ehlers-Danlos, καθώς και ιστορικό οικογενούς νόσου της θωρακικής αορτής, θα πρέπει οι συγγενείς τους πρώτου βαθμού να υποβάλλονται σε απεικονιστική εξέταση όλης της θωρακικής αορτής.
4. Ο μετεγχειρητικός έλεγχος με αξονική ή μαγνητική τομογραφία θα πρέπει να συστήνεται μετά από χειρουργικές επεμβάσεις στη θωρακική αορτή.
5. Φαρμακευτική θεραπεία με αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου θα πρέπει να χορηγείται σε ασθενείς που εμφανίζουν χαμηλό κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας μετεγχειρητικά.

Κατευθυντήριες οδηγίες για την επιδιόρθωση δίπτυχης αορτικής βαλβίδας με ή χωρίς αντικατάσταση της ανιούσας θωρακικής αορτής με σωληνωτό μόσχευμα:

Class I

1. Όλοι οι ασθενείς που υποβάλλονται σε επιδιόρθωση δίπτυχης αορτικής βαλβίδας πρέπει να ελέγχονται με διεγχειρητικό διοισοφάγειο υπερηχογράφημα. (Level of evidence C)
2. Προφυλακτική χορήγηση αντιβιοτικών για Gram θετικούς και αρνητικούς κόκκους θα πρέπει να χορηγείται σε χειρουργικές επεμβάσεις επιδιόρθωσης δίπτυχης αορτικής βαλβίδας. (Level of evidence C)
3. Μετεγχειρητική χορήγηση φαρμακευτικής θεραπείας με β-αναστολέα θα πρέπει να χορηγείται μετεγχειρητικά εάν είναι ανεκτή μετά από επιδιόρθωση δίπτυχης αορτικής βαλβίδας. (Level of evidence C)
4. Φαρμακευτική θεραπεία με αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου θα πρέπει να χορηγείται σε ασθενείς που εμφανίζουν χαμηλό κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας μετεγχειρητικά μετά από επιδιόρθωση δίπτυχης αορτικής βαλβίδας. (Level of evidence C)
5. Οι ασθενείς με επιδιόρθωση δίπτυχης αορτικής βαλβίδας θα πρέπει να λαμβάνουν προφυλακτική αντιβιοτική θεραπεία σε κάθε περίπτωση επεμβατικής πράξης, συμπεριλαμβανομένων οδοντιατρικών πράξεων. (Level of evidence C)

Μετρήσεις ποιότητας

1. Προφυλακτική χορήγηση αντιβιοτικών για Gram θετικούς και αρνητικούς κόκκους θα πρέπει να χορηγείται σε χειρουργικές επεμβάσεις επιδιόρθωσης δίπτυχης αορτικής βαλβίδας.
2. Διεγχειρητικό διοισοφάγειο υπερηχογράφημα πρέπει να γίνεται σε όλους τους ασθενείς με χειρουργικές επεμβάσεις επιδιόρθωσης δίπτυχης αορτικής βαλβίδας.
3. Μετεγχειρητική φαρμακευτική θεραπεία με β-αναστολέα και αναστολέα των διαύλων ασβεστίου θα πρέπει να χορηγείται σε ασθενείς με χειρουργική επιδιόρθωση δίπτυχης αορτικής βαλβίδας, εφόσον αυτή είναι ανεκτή.
4. Οι ασθενείς με επιδιόρθωση δίπτυχης αορτικής βαλβίδας θα πρέπει να λαμβάνουν προφυλακτική αντιβιοτική θεραπεία σε κάθε περίπτωση επεμβατικής πράξης, συμπεριλαμβανομένων οδοντιατρικών πράξεων.

Κατευθυντήριες οδηγίες για την αντιμετώπιση του οξέος διαχωρισμού της αορτικής ρίζας ή της ανιούσας θωρακικής αορτής:

Class I

1. Άμεση διάγνωση θα πρέπει να επιδιώκεται με τη χρήση αξονικής τομογραφίας ή διοισοφάγειου υπερηχογραφήματος. Το τελευταίο μπορεί να γίνει στην αίθουσα του χειρουργείου πριν τη στερνοτομή ως επιβεβαιωτικό της διάγνωσης. (Level of evidence B)
2. Αντικατάσταση της ανιούσας θωρακικής αορτής (με εκτομή του σημείου όπου έχει γίνει το σχίσμο του έσω χιτώνα) θα πρέπει να εκτελείται σε ασθενείς με διαχωρισμό τύπου A σύμφωνα με την ταξινόμηση κατά Stanford. (Level of evidence B)
3. Μία ανοιχτή (χωρίς τη χρήση λαβίδας αποκλεισμού της αορτής) περιφερική αναστόμωση και αντικατάσταση του ημίσεως ή όλου αορτικού τόξου είναι συνήθως αποτελεσματική για την περιφερική αποκατάσταση του αορτικού διαχωρισμού τύπου A. (Level of evidence B)
4. Αντικατάσταση της ανιούσας θωρακικής αορτής και του αορτικού τόξου ενδείκνυται σε ασθενείς με οξύ διαχωρισμό τύπου A και πρωτογενές ή

δευτερογενές σχίσσιμο του έσω χιτώνα με εντόπιση στο αορτικό τόξο το οποίο περιλαμβάνει ή εκτείνεται πέραν της έκφυσης της αριστερής κοινής καρωτίδας αρτηρίας και ταυτόχρονα υπάρχει και σημαντική διάταση του αορτικού τόξου (>5.0cm). (Level of evidence C)

5. Αντικατάσταση της αορτικής ρίζας ενδείκνυται σε ασθενείς με οξύ διαχωρισμό τύπου Α και πρωτογενές σχίσσιμο του έσω χιτώνα που εκτείνεται ή ξεκινάει στο δεξιό ή αριστερό στεφανιαίο κόλπο ή υπάρχει διάταση της αορτικής ρίζας εγγύτερα της κολποσωληνώδους συμβολής (>4.5cm). (Level of evidence C)
6. Ο αρτηριακός καθετηριασμός για την καρδιοπνευμονική παράκαμψη κατά την χειρουργική αντιμετώπιση του οξέως διαχωρισμού τύπου Α πρέπει να αιματώνει άμεσα τον αληθή αυλό. (Level of evidence C)
7. Απώτερη απεικονιστική παρακολούθηση του αορτικού διαχωρισμού που είτε χειρουργείται είτε όχι θα πρέπει να πραγματοποιείται ανά τακτά χρονικά διαστήματα και συγκεκριμένα τουλάχιστον κάθε 6 μήνες τον πρώτο χρόνο και μετά σε ετήσια βάση. (Level of evidence C)
8. Απώτερη υπερηχογραφική παρακολούθηση συνιστάται σε ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε επέμβαση διατήρησης της αορτικής τους βαλβίδας ή αντικατάστασης της αορτικής βαλβίδας με βιολογική προσθετική αορτική βαλβίδα. (Level of evidence C)

Class IIa

1. Είναι αποδεκτή η χρήση ορθόδρομης ή παλίνδρομης αιμάτωσης του εγκεφάλου με τη χρήση βαθιάς υποθερμίας και ολικής κυκλοφορικής παύσης με σκοπό την αποκατάσταση του αορτικού τόξου ώστε να μειωθούν οι επιπλοκές από το κεντρικό νευρικό σύστημα. (Level of evidence B)
2. Είναι αποδεκτή η χρήση μεθόδων διατήρησης της αορτικής βαλβίδας ή αντικατάστασης αυτής κατά την αντιμετώπιση του οξέως διαχωρισμού τύπου Α εφόσον μπορούν να διασφαλιστούν χαμηλά ποσοστά θνητότητας. (Level of evidence B)
3. Είναι σωστή η αντιμετώπιση του οξέως τύπου Α ενδοτοιχωματικού αορτικού αιματώματος σε επείγουσα βάση. (Level of evidence B)

4. Η χρησιμοποίηση διεγχειρητικού διοισοφάγειου υπερηχογραφήματος θα πρέπει να επιδιώκεται. (Level of evidence B)
5. Μετεγχειρητική εφόρου ζωής απεικονιστική παρακολούθηση με τομογραφίες πρέπει να προτείνεται σε ασθενείς με υπολειπόμενο διαχωρισμό της αορτής πέρα από το σημείο της αντικατάστασης της θωρακικής αορτής.

Class IIb

1. Φαρμακευτική αντιμετώπιση και παρακολούθηση ανά τακτά διαστήματα μπορεί να εφαρμοστεί σε ασθενείς υψηλού εγχειρητικού κινδύνου με ασυμπτωματικό και απεικονιστικά σταθερό ενδοτοιχωματικό αορτικό αιμάτωμα τύπου A. (Level of evidence C)
2. Φαρμακευτική αντιμετώπιση και παρακολούθηση ανά τακτά διαστήματα μπορεί να εφαρμοστεί σε ασθενείς με αορτικό διαχωρισμό τύπου B ο οποίος εκτείνεται στο αορτικό τόξο. (Level of evidence C)
3. Ασθενείς στους οποίους η αορτική βαλβίδα, διατηρήθηκε, αναρτήθηκε ή αντικαταστάθηκε από βιολογική προσθετική αορτική βαλβίδα μετά από χειρουργική αντιμετώπιση οξέως αορτικού διαχωρισμού θα πρέπει να παρακολουθούνται με υπερηχογράφημα σε ετήσια βάση. Φαρμακευτική αντιμετώπιση και παρακολούθηση ανά τακτά διαστήματα μπορεί να εφαρμοστεί σε ασθενείς υψηλού εγχειρητικού κινδύνου με ασυμπτωματικό και απεικονιστικά σταθερό ενδοτοιχωματικό αορτικό αιμάτωμα τύπου A. (Level of evidence C)

Μετρήσεις ποιότητας

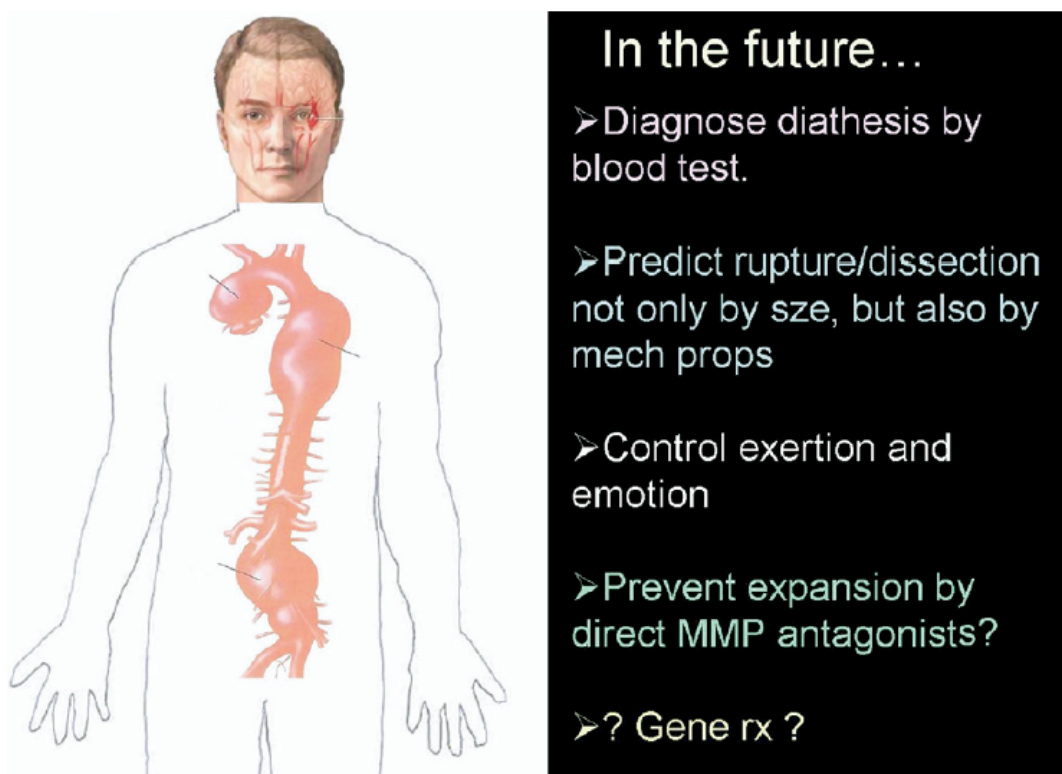
1. Προφυλακτική προεγχειρητική χορήγηση αντιβιοτικών θα πρέπει να χορηγείται 24 ή 48 ώρες προ του χειρουργείου ανάλογα με την προτίμηση του χειρουργού.
2. Οι ασθενείς που παίρνουν εξιτήριο θα πρέπει να λαμβάνουν φαρμακευτική αγωγή με β-αναστολέα εφόσον η δράση τους είναι ανεκτή.
3. Οι ασθενείς που έχουν ταυτόχρονη διάγνωση στεφανιαίας νόσου θα πρέπει να λαμβάνουν από του στόματος αντιαιμοπεταλιακή φαρμακευτική αγωγή.

4. Οι ασθενείς που έχουν ταυτόχρονη διάγνωση στεφανιαίας νόσου θα πρέπει να λαμβάνουν φαρμακευτική αγωγή για τη μείωση των επιπέδων της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης της χοληστερόλης (LDL).
5. Φαρμακευτική θεραπεία με αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου θα πρέπει να χορηγείται σε ασθενείς που εμφανίζουν χαμηλό κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας μετεγχειρητικά.

2.17 Μελλοντικές προοπτικές

Αυτές συνοψίζονται στην εικόνα που ακολουθεί (εικόνα 2-32).

Εικόνα 2-32. Μελλοντικές προοπτικές στην αντιμετώπιση των ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής.



Η οικογενής φύση των ανευρυσμάτων έχει πλέον καταστεί γνωστή στο γενικό ιατρικό κόσμο. Υπάρχει η ελπίδα ότι ο έλεγχος των μελών μίας οικογένειας που έχει τουλάχιστον ένα μέλος που εμφάνισε αορτικό ανεύρυσμα θα γίνεται ρουτίνα και θα

πρέπει να δικαιολογείται από τις ασφάλειες υγείας, αναγνωρίζοντας ακριβώς ότι η διάγνωση του ανευρύσματος νωρίτερα από την εμφάνιση συμπτωμάτων είναι ο μόνος ενδεδειγμένος τρόπος για να παρατείνει την επιβίωση ασθενών με ανευρύσματα.

Ο ρόλος φυσικού και συναισθηματικού στρες στην εμφάνιση διαχωρισμού σε ασθενείς με μετρίου βαθμού αύξηση της διαμέτρου της ανιούσας θωρακικής αορτής είναι πλέον ξεκάθαρος και τεκμηριωμένος.¹⁰⁵⁻¹⁰⁷ Κάτι τέτοιο επιβάλλει την εφαρμογή πρακτικών για περιορισμό του φυσικού και συναισθηματικού στρες σε ασθενείς με γνωστά ανευρύσματα. Επίσης, ο υπερηχογραφικός έλεγχος σε αθλητές άρσης βαρών για τον αποκλεισμό ύπαρξης ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής είναι απόλυτα δικαιολογημένος και πρέπει να γίνεται συστηματικά γιατί θα συντελέσει στο να σωθούν πολλοί νέοι αθλητές.

Καθώς κατανοούμε τα βιολογικά μηχανικά χαρακτηριστικά του αορτικού τοιχώματος σε μεγαλύτερο βάθος, υπάρχει η ελπίδα ότι άμεσες μη επεμβατικές μετρήσεις του αναπτυσσόμενου στρες στο τοίχωμα της αορτής θα εμπλουτίσουν τα ισχύοντα κριτήρια με βάση τη διάμετρο του ανευρύσματος για την πρόγνωση των ανεπιθύμητων συμβαμάτων και θα καθορίσουν με μεγαλύτερη ακρίβεια τον κατάλληλο χρόνο της χειρουργικής ή επεμβατικής αντιμετώπισης.

Ίσως πιο σημαντικό όλων είναι η περαιτέρω κατανόηση των μοριακών μηχανισμών και της παθοφυσιολογίας που οδηγεί στην εμφάνιση και αύξηση του μεγέθους των ανευρυσμάτων της αορτής. Ακριβώς σ' αυτό το πεδίο κινείται και το θέμα της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Μία τέτοια βαθύτερη κατανόηση των μοριακών μηχανισμών θα μπορούσε να ανοίξει νέους δρόμους για την ανάπτυξη καινοτομικών και πολύ πιο αποτελεσματικών θεραπειών. Ήδη υπάρχουν κλινικές μελέτες σε εξέλιξη για τον έλεγχο ανταγωνιστών των μεταλλοπρωτεϊνών, όπως και φαρμακευτικών παραγόντων που επηρεάζουν τα μοριακά μονοπάτια του TGF- β . Η κατευθυνόμενη ανάπτυξη φαρμάκων θα είναι εφικτή όταν η προχωρημένη γενετική κατανόηση, οδηγήσει μέσω της κατανόησης της πρωτεομικής ανάλυσης στη γνώση της αλλαγής των πρωτεϊνών στο ανευρυσματικό αορτικό τοίχωμα, κάτι που επιχειρείται να διερευνηθεί στην παρούσα διδακτορική διατριβή, ώστε να επιχειρηθεί η ανάπτυξη φαρμάκων που θα στοχεύει στην παρεμπόδιση εμφάνισης τέτοιων πρωτεϊνικών αλλαγών που οδηγούν στην επέκταση του ανευρύσματος.

Βρισκόμαστε στην εποχή της έντονης και στοχευμένης έρευνας στην προσπάθεια κατανόησης των θεμελιωδών μοριακών αλλαγών που οδηγούν στο σχηματισμό ανευρύσματος της αορτής. Η πρόοδος σ' αυτόν το τομέα θα επιτρέψει τον ακριβή ορισμό της γενετικής διάγνωσης της ανευρυσματικής νόσου, ίσως ακόμα και στην αίθουσα των επειγόντων περιστατικών μέσω του προσδιορισμού των ειδικών προϊόντων mRNA που θα χαρακτηρίζουν ένα ανεύρυσμα με την υψηλότερη ακρίβεια, ευαισθησία και ειδικότητα. Επίσης, σχολαστικός έλεγχος ύπαρξης μεταλλάξεων, όχι μόνο στο σύνδρομο Marfan, αλλά γενικά στα σποραδικά ανευρύσματα της ανιούσας αορτής που παρατηρούνται στους ηλικιωμένους στο γενικό πληθυσμό θα γίνουν σύντομα ευρέως διαθέσιμα για ελέγχους ρουτίνας. Τα μέλη μίας οικογένειας θα μπορούν σύντομα να ελέγχονται γενετικά, επιτρέποντας έτσι από τη γέννηση να γίνεται γνωστό εάν ένα άτομο είναι επιρρεπές να εμφανίσει ανεύρυσμα κατά τη διάρκεια της ζωής του. Τελικά, η γονιδιακή θεραπεία εφαρμοζόμενη σε επίπεδο αορτής επιλεκτικά σε συγκεκριμένα κύτταρα του αορτικού τοιχώματος ή σε κύτταρα των γονάδων, ίσως μπορέσει μία μέρα να εφαρμοστεί σε κλινικό επίπεδο, γεγονός που θα μπορούσε να προκύψει μόνο μέσα από την βαθιά και ολοκληρωμένη κατανόηση της ανευρυσματικής νόσου στο γενετικό και μοριακό επίπεδο. Πέραν αυτών των μελλοντικών μεθόδων αντιμετώπισης των ανευρυσμάτων, η χειρουργική θεραπεία των ανευρυσμάτων, που αποτελεί ακόμα και σήμερα το gold-standard της θεραπείας, γίνεται ολοένα και πιο ασφαλής καθώς βελτιώνονται τα χρησιμοποιούμενα υλικά, φάρμακα και χειρουργικές τεχνικές.

Πριν από 100 χρόνια περίπου, ο Sir William Osler υποστήριξε ότι: «δεν υπάρχει άλλη ασθένεια που να συντελεί περισσότερο στην κλινική ταπείνωση από το ανεύρυσμα της αορτής». Ουσιαστικά αυτή η θέση είναι αληθινή σε μεγάλο βαθμό και σήμερα, καθώς τα ανευρύσματα αποτελούν θανατηφόρες καταστάσεις που αποτελούν πρόκληση για τις ικανότητες και την εμπειρία των κλινικών ιατρών και των χειρουργών θέτοντας σε κίνδυνο την ασφάλεια των ασθενών. Παρόλα αυτά, με την πρόοδο των διαγνωστικών και χειρουργικών τεχνικών οι προοπτικές των ασθενών έχουν βελτιωθεί σημαντικά. Καθώς η ιατρική επιστήμη και η μοριακή βιολογία αποκαλύπτει ολοένα και περισσότερο τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των ανευρυσμάτων, η ισορροπία των δυνάμεων θα συνεχίσει να γέρνει προς όφελος των ασθενών και των ιατρών τους.

3. ΑΟΡΤΗ ΚΑΙ ΚΟΛΛΑΓΟΝΟ

3.1 Θεμέλια εξωκυττάρια ουσία και κολλαγόνο

Η θεμέλια εξωκυττάρια ουσία σε όλους τους ιστούς του ανθρώπινου οργανισμού και ειδικά των ελαστικών οργάνων όπως η αορτή, σχηματίζεται από κολλαγόνα, πρωτεογλυκάνες, γλυκοζαμινογλυκάνες, γλυκοπρωτεΐνες και ελαστίνη. Η θεμέλια εξωκυττάρια ουσία δεν λειτουργεί μόνο ως δομικός σκελετός για τα όργανα και τους ιστούς αλλά επιπλέον συμμετέχει ενεργά στην ρύθμιση των κυτταρικών λειτουργιών μέσω των αλληλεπιδράσεων κυττάρου-δικτύου (cell-matrix interactions). Συνεπακόλουθα, η δομή και η οργάνωση των διάφορων μορφών εξωκυττάριας ουσίας είναι διαφορετική από όργανο σε όργανο και απόλυτα προσαρμοσμένη στην εξυπηρέτηση της λειτουργίας και της λειτουργικότητας του κάθε συγκεκριμένου οργάνου. Υπάρχουν, αναγνωρισμένα ως τώρα, 28 διαφορετικά είδη ώριμων πρωτεϊνών κολλαγόνων, που συνδυαζόμενα οικοδομούνται σε δομές διαφόρων ειδών, όπως ινίδια, μικροϊνίδια και δικτυωτούς σχηματισμούς.¹⁰⁸⁻¹¹⁰ Στο κεφάλαιο αυτό γίνεται προσπάθεια να αναδειχτούν τα χαρακτηριστικά της οικογένειας των κολλαγόνων που σχηματίζουν ινίδια, και ειδικά των ελασσόνων κολλαγόνων τύπου V και XI, στην οικοδόμηση της θεμέλιας εξωκυττάριας ουσίας στο αορτικό τοίχωμα και επιχειρείται η σύνδεση αυτών των μορφών κολλαγόνου με μοριακά μονοπάτια που μπορεί να σχετίζονται με την παθοφυσιολογία της δημιουργίας ανευρυσμάτων.

3.2 Ταξινόμηση των γνωστών μορφών κολλαγόνου

Τα είδη των κολλαγόνων που συναντούμε στον ανθρώπινο οργανισμό ταξινομούνται σε 28 τύπους (πίνακας 3-1), επιτελούν διαφορετικές λειτουργίες (πίνακας 3-2) και αριθμούνται με ρωμαϊκά νούμερα από το I έως το XXVIII, ανάλογα με την χρονολογική σειρά ανακάλυψής τους. Όλα τα είδη κολλαγόνων είναι τριμερή και σχηματίζουν ινίδια τριπλής έλικας. Έχουν αναγνωριστεί 45 γονίδια που κωδικοποιούν αντίστοιχες αλυσίδες πολυπεπτιδίων. Τρεις τέτοιες αλυσίδες πολυπεπτιδίων σχηματίζουν ένα ινίδιο κολλαγόνου από τα 28 είδη, που μπορεί να είναι

ομοτριμερές ή ετεροτριμερές, ανάλογα αν συμμετέχουν στον σχηματισμό του όμοιες ή διαφορετικές αλυσίδες.¹¹⁰

Πίνακας 3-1. Τα είδη των κολλαγόνων, τα γονίδια που κωδικοποιούν τις αλυσίδες και ο συνδυασμός των αλυσίδων.

Collagen type	Genes	Molecular structure
Type I	COL1A1, COL1A2	$\alpha 1(I)_2\alpha 2(I)$
Type II	COL2A1 (A,B)	$\alpha 1(II)_3$
Type III	COL3A1	$\alpha 1(III)_3$
Type IV	COL4A1, COL4A2, COL4A3, COL4A4, COL4A5, COL4A6	$\alpha 1(IV)_2\alpha 2(IV)$ $\alpha 3(IV)\alpha 4(IV)\alpha 5(IV)$ $\alpha 5(IV)_2\alpha 6(IV)$
Type V	COL5A1, COL5A2, COL5A3	$\alpha 1(V)_2\alpha 2(V)^a$ $\alpha 1(V)_3$ $\alpha 1(V)\alpha 2(V)\alpha 3(V)$
Type VI	COL6A1, COL6A2, COL6A3, COL6A4, COL6A5, COL6A6	$\alpha 1(VI)\alpha 2(VI)\alpha 3(VI)$ $\alpha 1(VI)\alpha 2(VI)\alpha 4(VI)$ $\alpha 1(VI)\alpha 2(VI)\alpha 5(VI)$ $\alpha 1(VI)\alpha 2(VI)\alpha 6(VI)$
Type VII	COL7A1	$\alpha 1(VII)_3$
Type VIII	COL8A1, COL8A2	$\alpha 1(VIII)_2\alpha 2(VIII)$ $\alpha 1(VIII)_3$ $\alpha 2(VIII)_3$
Type IX	COL9A1, COL9A2, COL9A3	$\alpha 1(IX)\alpha 2(IX)\alpha 3(IX)_3$
Type X	COL10A1	$\alpha 1(X)_3$
Type XI	COL11A1(A,B,C), COL11A2, COL2A1(A) ^b	$\alpha 1(XI)\alpha 2(XI)\alpha 3(XI)$
Type XII	COL12A1	$\alpha 1(XII)_3$
Type XIII	COL13A1	$\alpha 1(XIII)_3$
Type XIV	COL14A1	$\alpha 1(XIV)_3$
Type XV	COL15A1	$\alpha 1(XV)_3$
Type XVI	COL16A1	$\alpha 1(XVI)_3$
Type XVII	COL17A1	$\alpha 1(XVII)_3$
Type XVIII	COL18A1	$\alpha 1(XVIII)_3$
Type XIX	COL19A1	$\alpha 1(XIX)_3$
Type XX	COL20A1 ^c	$\alpha 1(XX)_3$
Type XXI	COL21A1	$\alpha 1(XXI)_3$
Type XXII	COL22A1	$\alpha 1(XXII)_3$
Type XXIII	COL23A1	$\alpha 1(XXIII)_3$
Type XXIV	COL24A1	$\alpha 1(XXIV)_3$
Type XXV	COL25A1	$\alpha 1(XXV)_3$
Type XXVI	COL26A1	$\alpha 1(XXVI)_3$
Type XXVII	COL27A1	$\alpha 1(XXVII)_3$
Type XXVIII	COL28A1	$\alpha 1(XXVIII)_3$

Πίνακας 3-2. Λειτουργικότητα των τύπων κολλαγόνων

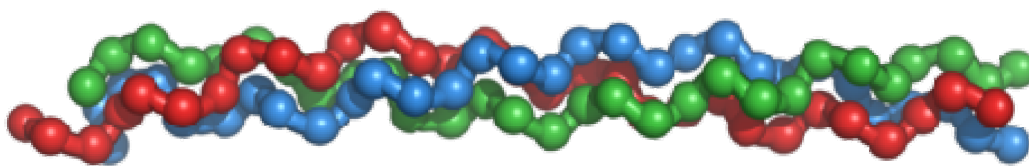
Classification	Collagen types
Fibril-forming collagens	I, II, III
Regulatory fibril-forming collagens	V, XI,
	XXIV, XXVII
FACIT ^a collagens	IX, XII, XIV
FACIT-like collagens	XVI, XIX, XXI, XXII
Basement membrane collagen	IV
Beaded filament-forming collagen	VI
Anchoring fibrils	VII
Network-forming collagens	VIII, X
Transmembrane collagens	XIII, XVII, XXIII, XXV
	Gliomedins, ectodysplasin
Multiplexin collagens (endostatin-XV and -XVIII)	XV, XVIII
Other molecules with collagenous domains	XXVI, XXVIII C1q, collectins, acetylcholinesterase, adiponectin, surfactant protein, and others

3.3 Τύποι κολλαγόνων που έχουν την ικανότητα να σχηματίζουν ινίδια

Τα κολλαγόνα που σχηματίζουν ινίδια αποτελούν τριμερή πρωτεϊνικά μόρια τα οποία αποτελούνται από τρεις α αλυσίδες, η κάθε μία από τις οποίες φέρει χαρακτηριστικές επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες αμινοξέων της μορφής Gly-X-Y,

όπου Gly είναι το αμινοξύ γλυκίνη, X είναι συνήθως προλίνη και Y υδροξυπρολίνη (εικόνες 3-1 και 3-2). Η υπεροικογένεια των κολλαγόνων που σχηματίζουν ινίδια αποτελείται από τους τύπους I, II, III, V, XI, XXIV και XXVII και χωρίζεται από πλευράς λειτουργικότητας σε 3 κατηγορίες. Τα κολλαγόνα τύπου I, II και III είναι από τις πιο συχνά εκφραζόμενες πρωτεΐνες του ανθρώπινου σώματος και είναι τα βασικά συστατικά όλων των ινιδίων κολλαγόνων και αναφέρονται ως κύρια κολλαγόνα που έχουν την ικανότητα να σχηματίζουν ινίδια. Το κολλαγόνο τύπου I εκφράζεται σε όλα τα είδη ιστών, το κολλαγόνο τύπου II εκφράζεται κυρίως στους χόνδρους και το κολλαγόνο τύπου III σε όλα τα είδη ελαστικών ιστών και φυσικά στην αορτή. Αυτοί οι τύποι κολλαγόνων είναι υπεύθυνοι για την ευενδοτότητα και την ελαστικότητα της αορτής. Υπό κανονικές συνθήκες τα κολλαγόνα τύπου I και III σχηματίζουν ετεροτυπικά ινίδια με το κολλαγόνο τύπου V.^{26,110}

Εικόνα 3-1. Απεικονίζονται οι τρεις (διαφορετικού χρώματος) α αλυσίδες του ώριμου πρωτεϊνικού μορίου του κολλαγόνου που έχει την ικανότητα να σχηματίζει ινίδια. Αυτό το μοτίβο στροφών μεταξύ των 3 αλυσίδων είναι εφικτό λόγω της ύπαρξης του αμινοξέος της γλυκίνης στο επαναλαμβανόμενο μοτίβο Gly-X-Y, επειδή η γλυκίνη είναι το μικρότερο αμινοξύ σε όγκο και έτσι επιτρέπει αυτή τη διαμόρφωση στο ώριμο πρωτεϊνικό μόριο.



Εικόνα 3-2. Απεικονίζεται το μόριο του κολλαγόνου XI-α1 που ανήκει στα κολλαγόνα που έχουν την ικανότητα να σχηματίζουν ινίδια. Κάθε γράμμα αντιπροσωπεύει ένα αμινοξύ. Στο μεσαίο τμήμα μεγέθους περίπου 1000 αμινοξέων φαίνεται ξεκάθαρα ότι κάθε τρίτο αμινοξύ είναι γλυκίνη.

Col11a1

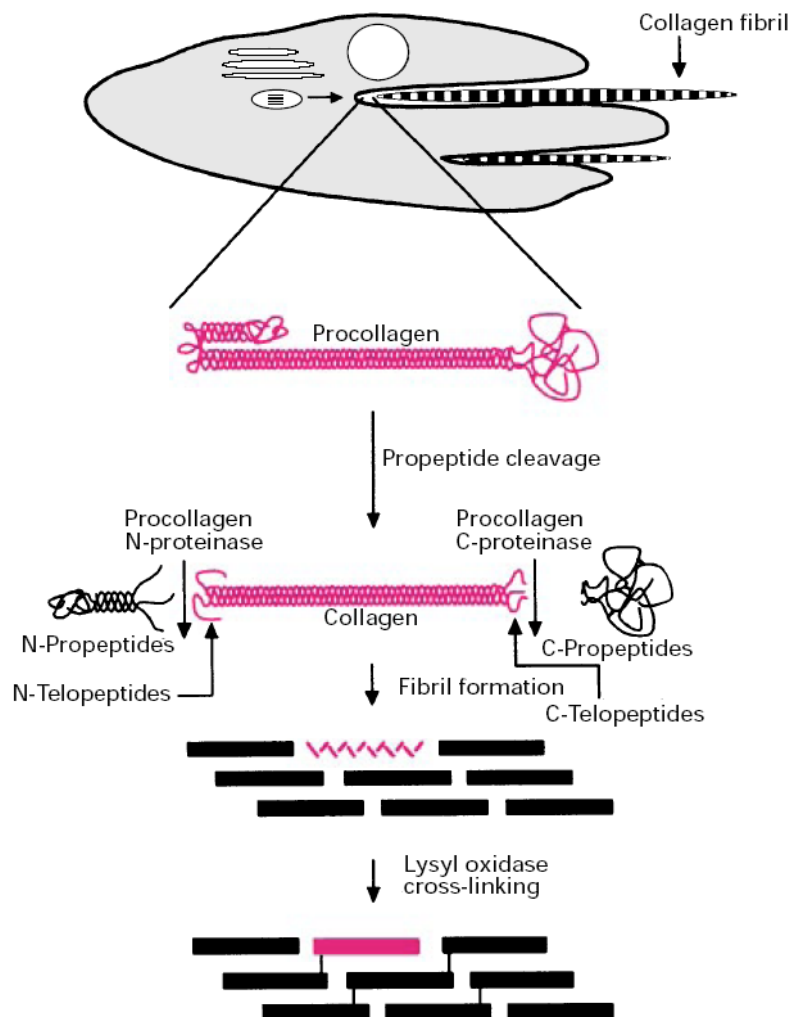
```
MEPWSSRWKTKRWLWDFTVTTLALTFLFQAREVRGAPVDVLKALDFHNSPEGISKTTGFCTNRKNSKGS
DTAYRVSKQAQLSAPTKQLFPGGTFFPEDFSILFTVVKPKKGIIQSFLLSIYNEHGIQQIGVEVGRSPVFLFE
DHTGKPAPEYDYLFRITVNIADGKWHRVAISVEKKTVMIVDCKKKTTKPLDRSERAIVDTNGITVFGTRI
LDEEVFEGLDIQQFLITGDPKAAAYDYCEHYSPPDCSSAPKAAQAQEPQIDEYAPEDIIEYDYEYGEAEYKE
AESVTEGPTVTEETIAQTEANIVDDFQYNYGTMESYQTEAPRHVSGTNEPNPVVEEIFTEEYLTGEDYDS
QRKNS EDTLYENKEIDGRSDLLVDGDLGEYDFYKEYEDKPTSPPNEEFGPGVPAETDITETSINGHG
AYGEGKQKGEPAVVEFGMLVEGPPGPAGPAGIMGPPGLQGPTGPPGDPGDRGPPGRPLPGADGLPGPPG
TMLMLPFRRYGGDGSKGPTISAQEAQAQAILQQAIALRGPPGPMGLTGRPCFVCGPSSCAKCESGDPGP
QSPRVQGPPTGKPKGRGRPCADGGRGMPGEPGAKGDRGFDGLPLPGDKCHRGERCPQGPFPFPDD
GMRGEDGEIGRGLPGAGPRGLLGRGTGAPGQPGMAQVDPGPPGPKGNMGPGEPGPPGQQGNPGPG
LPGPQGPPIGPPGEGKPGKPLAGLPGADGPPGHPGKEGQSGEKGALGPPGPGPIGYPGPRGVKGADGV
RGLKSGKEKGEDGFPFGKGMGLKGDREVGQIGPRGEDGPEGPKGRAGPTGDPGPGSQAGEKGLGVP
GLPGYPGRQGPKGSTGFPFGPGANGEGKARGVAGKPGPRGQRGPTGPRGSRGARGPTGKPGPKGTSGGDG
PPGPPGERGPQGPQGPVGFPGPKGPPGPPGPRMGCPGHPGQRGETGFQKGTGPPGPGGVVGPQGPPTGETGP
IGERGHPGPPGPPGEQGLPGAAGKEGAKGDPGPGQISGKDGAPAGLRGFPGERGLPGAQAGPLKGGEGPQ
GPPGPVGSPPGERGSAGTAGPIGLPGRPGPQGPFGPAGEKGAPGEGKGPQGPAGRDGVQGPVGLPGPAGPAG
SPGEDGDKGEIGEPGQKSGKDKGENGPPGPPGLQGFPVGAAGIAGGDGEPGPRGQQGMFGQKGDGEGARGF
PGPPGPILGLQGLPGPPGEGKGENGDVGFWGPPGPPGPRGPQGPNGADGPQGPVSVGSGVGVGEGKEPGEA
GNPGPPGEAGVGPGKGERGEKGEAGPPGAAGPPGAKGPPGDDGPKGNPGFVGFPGDPGPPGELGPAGQDG
VGDKGEDGDPGQPPGPPGSGEAGPPGPPGKRGPPGAAGAEGRQGEKGAKEAGAEAGPPGKTGPVGPQGP
AGKPGPEGLRGIPGPVGEQGLPGAAGQDGPFGPMGPPGLPLGLKGDGSKGEKGHPGLIGLIGPFGEGKEK
GDRGLPGTQGSPPGAKGDGGIPGPAGPLGPPGPPGLPGPQGPKNKGSTGPAGQKGDGSLPGPPGPPGPPG
EVIQPLPILSSKKTTRRHTEGMQADADDNILDYSDGMEEIFGSLNSLKDIEHMKFPMGTQTNPARTCKDL
QLSHPDFPDGEYWDPNQGCSDGSFKVYCNFTSGGETCIYDPDKKSEGVRISSWPKEKPGSWFSEFKRGKL
LSYLDVEGNSINMVQMTFLKLLTASARQNTYHCHQSAANYDVSSGSYDKALRFLGSNDEEMSYDNNPFI
KTLVDGCTSRKGYEKTIVIEINTPKIDQVPIVDVMINDFGDQNKQKFGFEVGPVCFGLG
```

AA=1806

Τα κολλαγόνα τύπου V και XI χαρακτηρίζονται ως ελάσσονα κολλαγόνα που ανευρίσκονται στη θεμέλια εξωκυττάρια ουσία που εκφράζει τα κολλαγόνα τύπου I, II και III σε διάφορους ιστούς. Η τυπική βιοσύνθεση των κολλαγόνων που έχουν την ικανότητα να σχηματίζουν ινίδια φαίνεται στην εικόνα 3-3. Το χαρακτηριστικό των ελασσόνων μορφών κολλαγόνου που σχηματίζουν ινίδια είναι ότι διατηρούν τμήματα του αμινο-τελικού προπεπτιδίου και σχετίζονται με την ρύθμιση μεγέθους/διαμέτρου των ινιδίων κατά την οικοδόμησή τους.^{111,112} Μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε κολλαγόνο τύπου V έχει βρεθεί ότι μειώνει σημαντικά τη διάμετρο των ετεροτυπικών

ινιδίων και συνεπώς μειώνει την αντοχή εφελκυσμού.¹¹³ Το κολλαγόνο τύπου XI σχετίζεται σε μεγάλο βαθμό δομικά και βιολογικά με το κολλαγόνο τύπου V, δεδομένου ότι έχει το ίδιο ογκώδες σφαιροειδές αμινο-τελικό τμήμα με παρόμοια δομή και μέγεθος.¹¹⁴ Υπάρχουν δε περιπτώσεις όπου αλυσίδες του κολλαγόνου τύπου V μπορεί να σχηματίζουν τριμερή κολλαγόνα με αλυσίδες κολλαγόνου τύπου XI ειδικά σε ιστούς εκτός των χόνδρων (εικόνα 3-4).¹¹⁵ Γι' αυτό το λόγο τα κολλαγόνα τύπου V και XI έχουν χαρακτηριστεί ως μία κοινή οικογένεια κολλαγόνου V/XI.^{116,117} Ο ρόλος της τρίτης κατηγορίας, των κολλαγόνων XXIV και XXVII, παραμένει σε μεγάλο βαθμό αδιευκρίνιστος μέχρι σήμερα.

Εικόνα 3-3. Απεικονίζεται η κλασσική σύνθεση των κύριων κολλαγόνων που έχουν την ικανότητα να σχηματίζουν ινίδια.



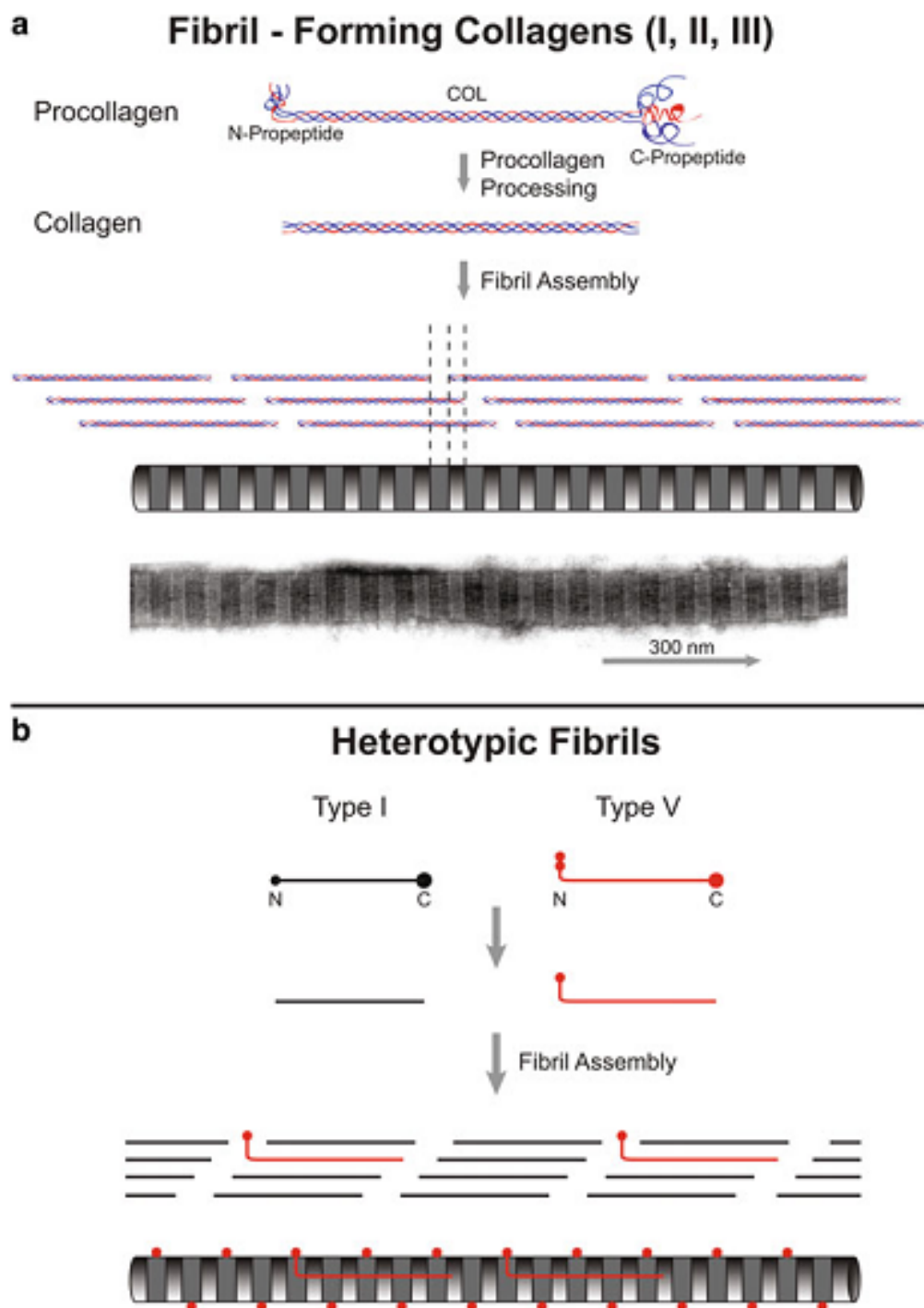
Εικόνα 3-4. Απεικονίζονται ετεροτυπικά τριμερή του κολλαγόνου XI-α1 με το κολλαγόνο V-α2, τα οποία με τα σφαιρικά ογκώδη αμινοτελικά πεπτίδια που διατηρούν στο ώριμο μόριο ελέγχουν το πάχος των ετεροτυπικών κολλαγόνων τύπου I με το οποίο συνδυάζονται.



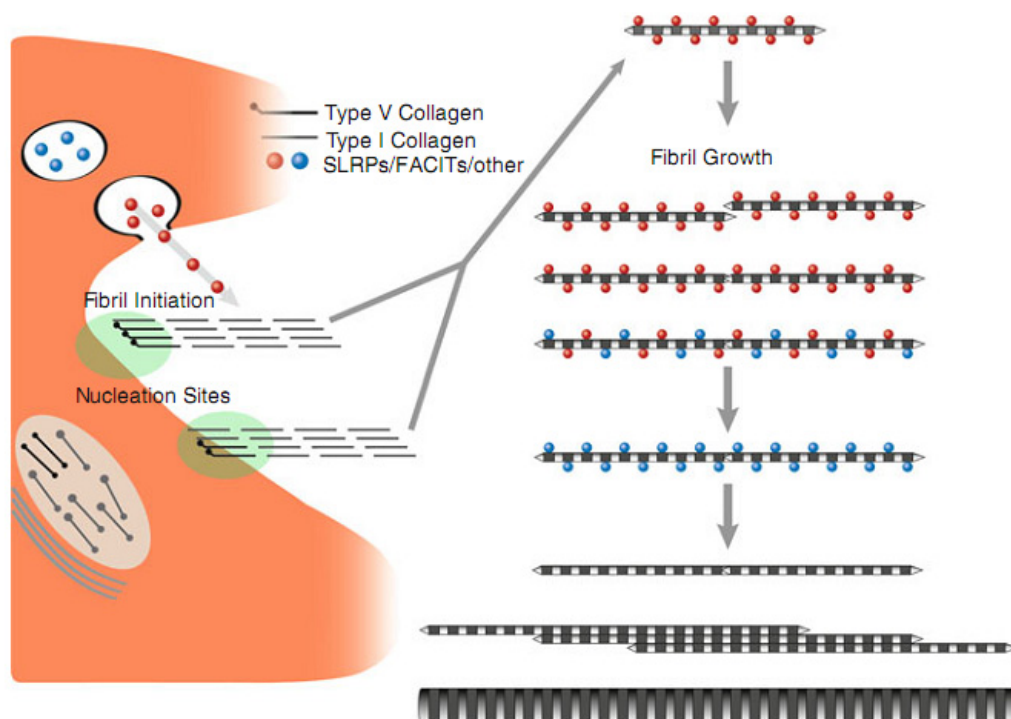
3.4 Ο ρόλος των ελασσόνων κολλαγόνων της οικογένειας V/XI

Τα κολλαγόνα συντίθεται και εκκρίνονται από τα κύτταρα ως προκολλαγόνα, τα οποία περιέχουν ένα καρβοξυτελικό και ένα αμινοτελικό προπεπτίδιο. Η παρουσία των προπεπτιδίων εξασφαλίζει ότι δεν θα υπάρξει πρόωρος σχηματισμός των μορίων των κολλαγόνων σε ινίδια. Η επεξεργασία και η αποκοπή των προπεπτιδίων μέσω πρωτεϊνών ρυθμίζει τελικά τον σχηματισμό των ινιδίων.¹¹⁸ Τα τελικά ώριμα ινίδια που σχηματίζονται μπορεί να είναι είτε ομοιοτυπικά είτε ετεροτυπικά (εικόνα 3-5). Τα κολλαγόνα V και XI χαρακτηρίζονται από την μη αποκοπή του αμινοτελικού τους προπεπτιδίου.¹¹⁹ Μαζί με τα μείζονα κολλαγόνα σχηματίζουν ετεροτυπικά ινίδια. Όμως το αμινοτελικό τους άκρο δεν μπορεί να ενσωματωθεί, λόγω στερεοτακτικής διαμόρφωσης, στο σώμα των ινιδίων, μαζί με τις τριπλές έλικες. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα οι συγκεκριμένες περιοχές να εξέχουν του σώματος που σχηματίζουν τα ινίδια, μέσα από χάσματα, που σχηματίζουν οι διαδοχικές τριπλές έλικες. Τα τμήματα αυτά τελικά αποκόπτονται (όχι πάντα πλήρως), με αποτέλεσμα την μείωση της διαμέτρου των ετεροτυπικών ινιδίων κολλαγόνου, την ρύθμιση της περιεκτικότητάς τους σε κολλαγόνα τύπου I και III και την δημιουργία των ώριμων, τελικών ινιδίων κολλαγόνου (εικόνα 3-6).

Εικόνα 3-5. Σχηματισμός ομοιοτυπικών και ετεροτυπικών ινιδίων κολλαγόνου.

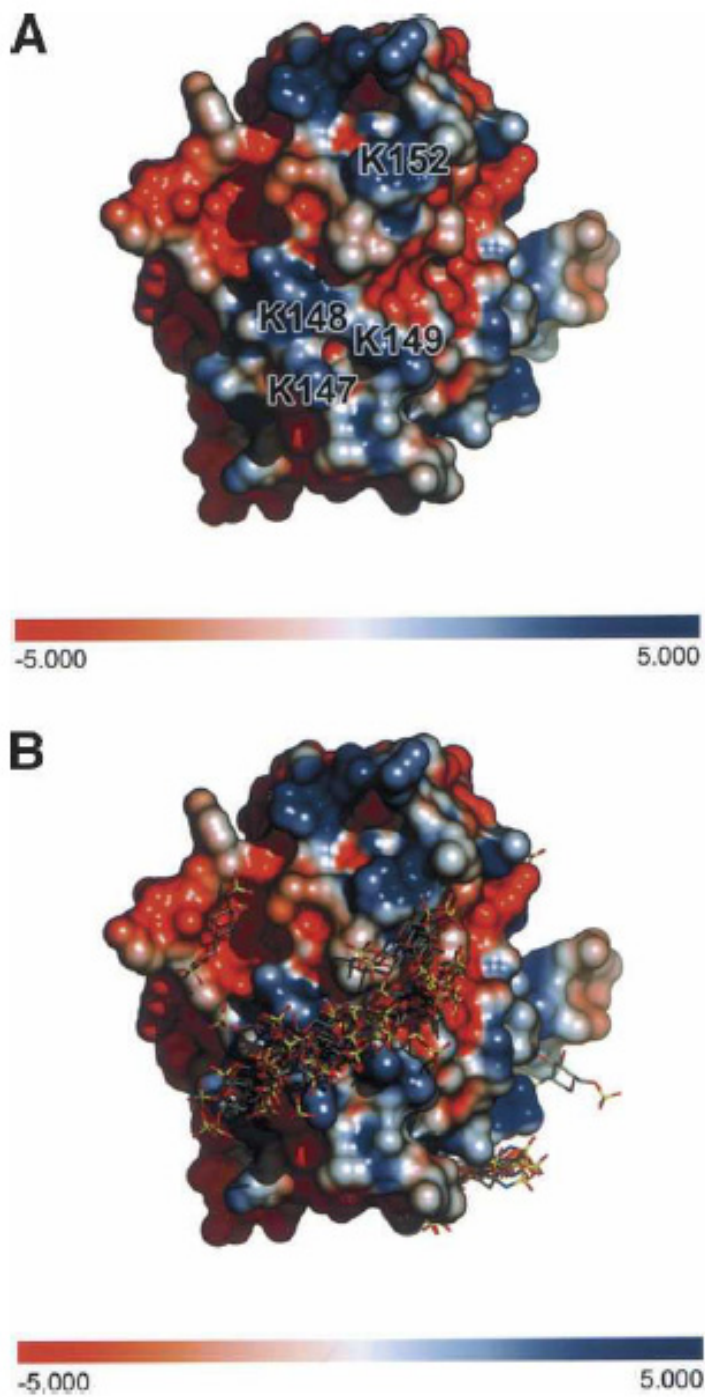


Εικόνα 3-6. Σχηματισμός και ωρίμανση των ινιδίων κολλαγόνου.

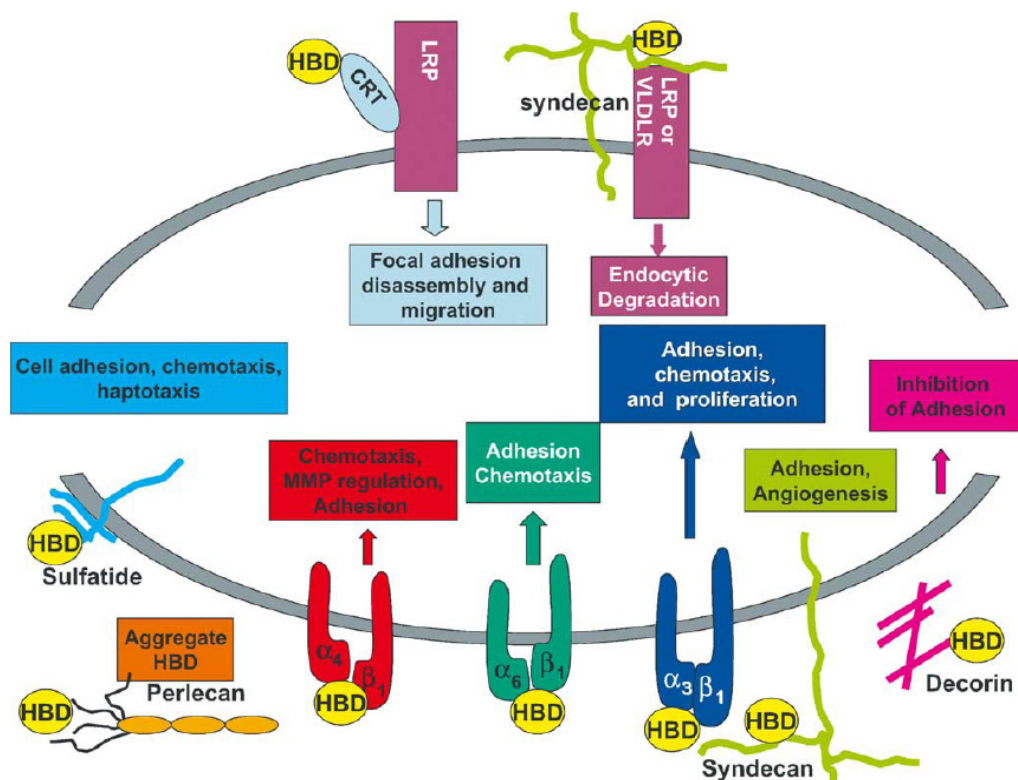


Ταυτόχρονα, υπάρχουν και άλλοι μηχανισμοί, οι οποίοι, είτε σε συνδυασμό με τον παραπάνω μηχανισμό, είτε ως ανεξάρτητοι μηχανισμοί, συνεισφέρουν στη ρύθμιση του μεγέθους της διαμέτρου των ετεροτυπικών ινιδίων των κολλαγόνων τύπου I και III. Λεπτομερής πρωτεομική ανάλυση των ογκωδών σφαιρικών αμινοτελικών τμημάτων του κολλαγόνου τύπου XI-α1, αλλά και του κολλαγόνου V έχει δείξει ότι αυτά τα πρωτεϊνικά τμήματα περιέχουν μία περιοχή με υψηλή συγγένεια σύνδεσης με την ηπαρίνη (heparine binding domain ή HBD) (εικόνα 3-7).¹²⁰ Είναι γνωστό από άλλες μελέτες ότι πρωτεϊνικά τμήματα τα οποία έχουν την ικανότητα να συνδέονται με την ηπαρίνη (HBD) μπορούν να αλληλεπιδράσουν με πολλούς υποδοχείς της θεμέλιας εξωκυττάριας ουσίας (εικόνα 3-8).^{121,122}

Εικόνα 3-7. Τρισδιάστατο μοντέλο του ογκώδους σφαιρικού αμινοτελικού τμήματος του κολλαγόνου τύπου XI-α1 το οποίο σχηματίζει μία περιοχή από γειτνιάζοντα θετικά φορτισμένα αμινοξέα λυσίνης (A), η οποία αποτελεί περιοχή σύνδεσης της αρνητικά φορτισμένης ηπαρίνης (B).



Εικόνα 3-8. Πρωτεϊνικά τμήματα που έχουν την ικανότητα να συνδέουν την ηπαρίνη (HBD) αλληλεπιδρούν με μία πλειάδα υποδοχέων ιντεγκρινών, καλρετικουλίνης, περλεκάνης, σουλφατιδών, ντεκορίνης, συνδεκανών κ.ά στη θεμέλια εξωκυττάρια ουσία ενεργοποιώντας πολλαπλές μοριακές λειτουργίες που ρυθμίζουν τη συγκόλληση και τη μετανάστευση των κυττάρων μεταξύ άλλων και την ενεργοποίηση των μεταλλοπρωτεϊνών μέσω των υποδοχέων ιντεγκρινών $\alpha_4\beta_1$, οι οποίες έχουν βρεθεί ότι διαδραματίζουν πρωταρχικό ρόλο στην παθοφυσιολογία των ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής.



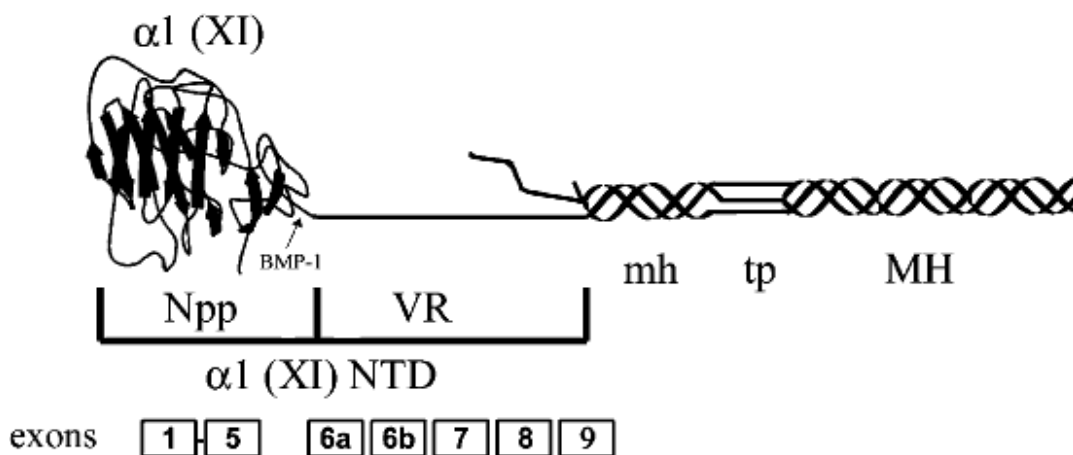
Το ερώτημα στην περίπτωση των κολλαγόνων τύπου V και XI είναι εάν το αμινοτελικό τμήμα μένει στο τελικό προϊόν ή εάν απελευθερώνεται από αυτό. Είναι γνωστό ότι στα κολλαγόνα τύπου V και XI το αμινοτελικό τμήμα απελευθερώνεται μερικώς. Συνεπώς, μέσα στη θεμέλια εξωκυττάρια ουσία υπάρχουν κολλαγόνα τύπου V και XI που φέρουν το αμινοτελικό τμήμα και ρυθμίζουν το μέγεθος/διάμετρο των ετεροτυπικών ινιδίων κολλαγόνου, αλλά υπάρχουν και αμινοτελικά τμήματα τα οποία κυκλοφορούν ελεύθερα στη θεμέλια εξωκυττάρια ουσία, και μέσω του HBD που περιέχουν μπορούν να αλληλεπιδρούν με σημαντικό αριθμό υποδοχέων και να

ρυθμίζουν περαιτέρω το μέγεθος/διάμετρο των ετεροτυπικών ινιδίων κολλαγόνου.^{123,124} Για παράδειγμα μία αυξημένη σύνθεση και ενεργοποίηση των μεταλλοπρωτεϊνών μέσω των υποδοχέων ιντεγκρίνης $\alpha_4\beta_1$ μπορεί να ευθύνεται για αυξημένη αποδόμηση των κολλαγόνων τύπου I και III με αποτέλεσμα την ύπαρξη μικρότερου μεγέθους/διαμέτρου ετεροτυπικών ινιδίων κολλαγόνου.

3.5 Ισομορφές του κολλαγόνου τύπου XI-α1

Ειδικά στην περίπτωση του κολλαγόνου τύπου XI-α1 υπάρχουν περαιτέρω μοριακά δεδομένα που μπορούν να εξηγήσουν τη δυνατότητα απελευθέρωσης ενός ποσοστού του αμινοτελικού τμήματός του. Πιο συγκεκριμένα το κολλαγόνο τύπου XI-α1 μέσω εναλλακτικού ματίσματος (alternative splicing) του mRNA του μπορεί να απαντάται σε 6 ισομορφές (εικόνα 3-9).^{125,126} Η συγγένεια του ενζύμου BMP-1 (Bone Morphogenetic Protein-1), που απελευθερώνει το αμινοτελικό τμήμα του κολλαγόνου τύπου XI-α1 είναι σε πλήρη συνάρτηση με τη μεταβλητή περιοχή που εκφράζεται στο τελικό προϊόν. Έτσι η ισομορφή B χωρίς το εξώνιο 8 και η ισομορφή C με το εξώνιο 8 απελευθερώνουν πλήρως (100%) το αμινοτελικό τμήμα. Η ισομορφή A με το εξώνιο 8 απελευθερώνει το αμινοτελικό τμήμα σε ποσοστό 75%, ενώ η ισομορφή A χωρίς το εξώνιο 8 και η ισομορφή C χωρίς το εξώνιο 8 απελευθερώνουν το αμινοτελικό τμήμα σε μικρά ποσοστά (23% και 18% αντίστοιχα).¹²⁷ Γίνεται, λοιπόν, αντιληπτό ότι το ποσοστό του αμινοτελικού τμήματος που απελευθερώνεται στη θεμέλια εξωκυττάρια ουσία καθορίζεται από τις ισομορφές του κολλαγόνου τύπου XI-α1 που εκφράζονται σε κάθε ιστό, σε κάθε φυσιολογική ή παθολογική κατάσταση και με αυτόν τον τρόπο μπορεί με ακρίβεια να ρυθμίζεται το μέγεθος/διάμετρος των ετεροτυπικών ινιδίων.

Εικόνα 3-9. Απεικονίζεται το εναλλακτικό μάτισμα του κολλαγόνου τύπου XI-α1 που οδηγεί στην ύπαρξη 6 διαφορετικών ισομορφών. Τα εξώνια 1 έως 5 κωδικοποιούν το ογκώδες σφαιρικό αμινοτελικό τμήμα της πρωτεΐνης. Τα εξώνια 6 έως 9 αποτελούν τη μεταβλητή περιοχή του εναλλακτικού ματίσματος και το τελικό πρωτεϊνικό προϊόν μπορεί να περιλαμβάνει ένα εκ των εξωνίων 6a ή 6b ή κανένα από αυτά (3 συνδυασμοί), ενώ αυτά τα προϊόντα μπορούν είτε να περιλαμβάνουν το εξώνιο 8 είτε όχι (σύνολο 6 συνδυασμοί). Οι ισομορφές A περιέχουν το εξώνιο 6a, οι ισομορφές B το εξώνιο 6b και οι ισομορφές C κανένα από τα εξώνια 6a και 6b.



3.6 Ελάσσινα κολλαγόνα που σχηματίζουν ινίδια και αορτή

Το κολλαγόνο τύπου XI-α1 αποτελεί βασικά ένα έλασσον ινώδες συστατικό των χόνδρων. Εκφράζεται όμως ευρέως και σε μη-χόνδρινους εμβρυϊκούς ιστούς. Στην εμβρυϊκή αορτή του ποντικού εκφράζεται σε μεγάλα ποσά,¹²⁸ ενώ μέχρι σήμερα δεν υπάρχει μελέτη της διεθνούς βιβλιογραφίας που να μελετά την έκφραση του κολλαγόνου τύπου XI-α1 στην ενήλικη ανθρώπινη αορτή, πλην της παρούσας μελέτης. Με βάση τα πειραματικά δεδομένα της σύστασης της ανθρώπινης αορτής σε κολλαγόνα (πίνακας 3-3)^{129,130} και επειδή το κολλαγόνο τύπου XI-α1 εκφράζεται φυσιολογικά σε ένα μεγάλο αριθμό οργάνων των ενηλίκων, θα μπορούσε να προβλεφτεί η έκφρασή του στην ανθρώπινη ανιούσα θωρακική αορτή, αν και αυτό μένει να αποδειχτεί πειραματικά όπως και ο ρόλος του στα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής. Με βάση αυτά

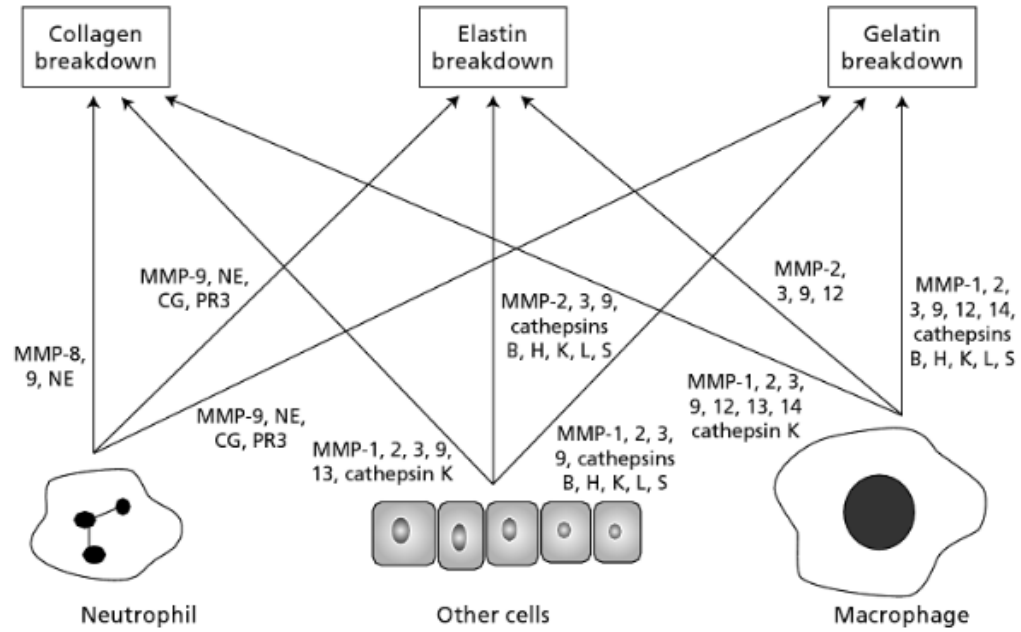
τα δεδομένα λίγα είναι γνωστά, ως τώρα, για τον ρόλο του κολλαγόνου τύπου XI-α1, πέρα από τον ρόλο του στην ρύθμιση του σχηματισμού, της οργάνωσης και της ανάπτυξης των χόνδρων. Οι γονιδιακές μεταλλάξεις στο γονίδιο του κολλαγόνου XI-α1 είναι βάση των συνδρόμων Stickler και Marshal.¹³¹

Τα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής χαρακτηρίζονται, εκτός των άλλων, και από μείωση του πάχους του μέσου χιτώνα της αορτής. Τα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής χαρακτηρίζονται από την καταστροφή μέρους της θεμέλιας εξωκυττάριας ουσίας και την μείωση της αντοχής του τοιχώματός τους στις δυνάμεις διατμητικής τάσης. Στα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής έχει διερευνηθεί σε μεγάλο βαθμό η συμμετοχή μεταλλοπρωτεϊνών στην αποδόμηση και αποδιοργάνωση των ινών κολλαγόνου και στην αλλοίωση της φυσιολογικής αρχιτεκτονικής του μέσου χιτώνα (εικόνα 3-10), παρόλα αυτά καμία συσχέτιση δεν έχει επιχειρηθεί μέχρι σήμερα σχετικά με την πιθανή αντίστροφη διαδικασία, δηλαδή την επιρροή των αλλαγών της έκφρασης των διαφόρων μορφών κολλαγόνου που έχουν την ικανότητα να σχηματίζουν ινίδια στην μετέπειτα ενεργοποίηση των μεταλλοπρωτεϊνών.

Πίνακας 3-3. Η περιεκτικότητα της φυσιολογικής ανθρώπινης αορτής σε κολλαγόνα τύπου I, III και V.

Tissue	No. of samples	Collagen contents in different types (mg/g defatted dry weight)			
		Total	I	III	V
Intima					
Normal	16	102	69	18	15
Grade I	13	110	73	18	18
Grade II	8	117	76	18	23
Grade III	5	119	78	16	25
Subintima	5	93	61	18	13
Media	16	84	51	22	12
Adventitia	16	113	91	14	8

Εικόνα 3-10. Απεικονίζεται ο ρόλος των μεταλλοπρωτεϊνών στην αποδόμηση του κολλαγόνου και των λοιπών συστατικών της θεμέλιας εξωκυττάριας ουσίας.



Β. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Τα σποραδικά ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής αφορούν κατά πλειοψηφία στους ηλικιωμένους και με βάση τη συνεχή αύξηση του προσδόκιμου επιβίωσης κατά τα τελευταία χρόνια υπολογίζεται ότι η επίπτωσή τους θα συνεχίσει να αυξάνεται.^{132,133} Τα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής σπάνια παρουσιάζουν συμπτώματα και η διάγνωσή τους συνήθως γίνεται τυχαία στα πλαίσια απεικονιστικών εξετάσεων για άλλες παθήσεις. Εάν δεν διαγνωστούν έγκαιρα συνήθως το πρώτο σύμπτωμα (διαχωρισμός ή ρήξη) μένει να είναι και το τελευταίο οδηγώντας γρήγορα στο μοιραίο.^{134,135}

Η παθογένεση των σποραδικών ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής δεν έχει ακόμα διαλευκανθεί πλήρως.¹³⁶ Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι αλλαγές στη σύσταση της θεμέλιας εξωκυττάριας ουσίας, η οποία αποτελεί το βασικό συστατικό του αορτικού τοιχώματος, ίσως διαδραματίζουν ένα σημαντικό ρόλο στη δημιουργία και επέκταση των ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής.^{110,136,137} Οι τύποι κολλαγόνων που σχηματίζουν ινίδια αποτελούν το σημαντικότερο ποσοστό της θεμέλιας εξωκυττάριας ουσίας του αορτικού τοιχώματος.^{24,115}

Ο σκοπός αυτής της διδακτορικής διατριβής είναι η διερεύνηση των αλλαγών της έκφρασης των τύπων κολλαγόνου που σχηματίζουν ινίδια στο ανθρώπινο αορτικό τοίχωμα κατά το σχηματισμό ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής. Μελετάται για πρώτη φορά στη διεθνή βιβλιογραφία η έκφραση του κολλαγόνου τύπου XI-α1 στη φυσιολογική θωρακική αορτή και στην ανευρυσματική ανιούσα θωρακική αορτή.¹³⁸ Σε δεύτερη φάση επιχειρείται μέσω λεπτομερούς πρωτεομικής ανάλυσης και ανάλυσης qRT-PCR στο περιφερικό φλεβικό αίμα ο καθορισμός μιας ομάδας βιοδεικτών που θα συντελεί στη διάγνωση των ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής. Η επίτευξη του τελευταίου στόχου κρίνεται εξαιρετικά σημαντική σε κλινικό επίπεδο δεδομένου ότι θα συντελέσει στην εύκολη διάγνωση των ανευρυσμάτων της θωρακικής αορτής μέσω απλών αιματολογικών εξετάσεων απαλλάσσοντας από την ανάγκη πολύ πιο δαπανηρών και επιβαρυντικών απεικονιστικών εξετάσεων όπως η αξονική τομογραφία θώρακος.

2. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Κλινικά δεδομένα και αορτικά δείγματα

Το ερευνητικό πρωτόκολλο εγκρίθηκε από τις επιτροπές δεοντολογίας όλων των συμμετεχόντων Νοσοκομείων και ελήφθησαν συγκαταθέσεις από τους ασθενείς που συμφώνησαν να συμμετάσχουν στο παρών ερευνητικό πρωτόκολλο. Κλινικά στοιχεία και ιστολογικά δείγματα αορτής ελήφθησαν από ασθενείς με φυσιολογική διάμετρο ανιούσας θωρακικής αορτής (ασθενείς που υποβλήθηκαν σε μεταμόσχευση καρδιάς – ή σε αντικατάσταση αορτικής βαλβίδας: τμήματα αορτής από την αορτοτομή), καθώς και από ασθενείς με ανεύρυσμα ανιούσας θωρακικής αορτής που υποβλήθηκαν σε αντικατάσταση αυτών. Οι ασθενείς με ανεύρυσμα της ανιούσας θωρακικής αορτής είχαν τρίπτυχες αορτικές βαλβίδες και χωρίστηκαν σε 3 επιμέρους υποομάδες ανάλογα με τη μέγιστη διάμετρο του ανευρύσματος της ανιούσας αορτής ως εξής: Α. διάμετρος μεταξύ 5-6cm, Β. διάμετρος μεταξύ 6-7cm και Γ. διάμετρος >7cm. Οι βιοψίες του αορτικού τοιχώματος ήταν ολικού πάχους και συμπεριελάμβαναν και τους 3 χιτώνες του αορτικού τοιχώματος. Τα δείγματα ψύχθηκαν άμεσα σε υγρό άζωτο και αποθηκεύτηκαν στους -80° Κελσίου μέχρι να αναλυθούν. Σχετικά νέοι σε ηλικία ασθενείς (<50 ετών) και ασθενείς με ανευρύσματα ανιούσας θωρακικής αορτής τα οποία αποδόθηκαν σε γενετικά σύνδρομα όπως Marfan, Ehlers-Danlos και Loeys-Dietz αποκλείστηκαν από την παρούσα μελέτη.

2.2 Ιστολογία – Ανοσοφθορισμός – Ανοσοϊστοχημεία – Ηλεκτρονική Μικροσκοπία

Για συμβατική ιστολογική ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν κρυοτομές πάχους 1.5μm. Τριάντα τομές από κάθε δείγμα τοποθετήθηκαν σε γυάλινα πλακάκια και χωρίστηκαν ώστε να εξεταστούν με χρώση Masson τριχρωμική και Movat πενταχρωμική ακολουθώντας τα αντίστοιχα πρωτόκολλα.¹³⁹ Για τον ανοσοφθορισμό χρησιμοποιήθηκαν κατάλληλα αντισώματα έναντι του κολλαγόνου τύπου I (ab292, 1:200 διάλυση: Abcam Inc, Cambridge MA). Τα πρωτογενή αντισώματα ανιχνεύθηκαν με κατάλληλα αντισώματα για το είδος (Alexa 568 συζευγμένα δευτερογενή αντισώματα: Molecular Probes, Invitrogen, Carlsbad, CA). Πριν από την τοποθέτηση

για προεπισκόπηση σε ειδικό σύστημα (Atto; BD Biosciences, Rockville, MD) το οποίο συνδέθηκε με ένα μικροσκόπιο Zeiss Axiovert 200M (Zeiss, Thornwood, NY).¹³⁹

Για την ανοσοϊστοχημεία, τα ιστολογικά δείγματα μονιμοποιήθηκαν σε 5% φορμόλη σε ρυθμιστικό διάλυμα ψευδαργύρου, εμβαπτίστηκαν σε παραφίνη, κόπηκαν σε τομές πάχους 1μm, και μονιμοποιήθηκαν με θερμότητα σε γυάλινα πλακίδια. Οι τομές αποπαραφινώθηκαν σε ξυλένη, επανυδατώθηκαν σε διαβαθμισμένη αιθανόλη και επώστηκαν για 30 λεπτά σε 0.01mg/mL υαλουρονιδάση (Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis, MO).¹⁴⁰ Το πρωτογενές αντίσωμα έναντι του κολλαγόνου τύπου XI-α1 διαλύθηκε σε αναλογία 1:400 και επώστηκε στην ιστολογική τομή για 1 ώρα στους 25° Κελσίου.¹⁴¹ Ένα δευτερογενές αντίσωμα έναντι κονίκλου συζεύχτηκε με horseradish υπεροξειδάση και επώστηκε για 30 λεπτά, ακολουθούμενο από την ανάπτυξη με υπόστρωμα χρωμογόνου (DakoCytomation, Dako, North America). Τέλος, στα πλακίδια εφαρμόστηκε χρώση αιματοξυλίνης.

Για την ηλεκτρονική μικροσκόπηση δείγματα αορτής τοποθετήθηκαν σε 1.25% φορμαλδεΰδη, 2.5% γλουταραλδεΰδη και 0.03% πικρικό οξύ σε 100mM ρυθμιστικού διαλύματος κακοδυλάτης και εμβαπτίστηκαν σε ρεζίνη.¹³⁹ Λεπτές τομές πάχους 1μm χρωματίστηκαν με 1% οξικό ουρανύλιο και εξετάστηκαν στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σαρώσεως από έναν ανεξάρτητο παρατηρητή.

2.3 Ποσοτική αντίδραση αντίστροφης μεταγραφάσης αλυσωτής αντίδρασης πολυμεράσης (real-time qRT-PCR)

Ολικό RNA απομονώθηκε μετά από σύνθλιψη του αορτικού δείγματος σε υγρό άζωτο, το οποίο στη συνέχεια ομογενοποιήθηκε στον παράγοντα Trizol (Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA) σύμφωνα με το πρωτόκολλο του κατασκευαστή. Η ποσοτική αντίδραση αντίστροφης μεταγραφάσης αλυσωτής αντίδρασης πολυμεράσης πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του ανιχνευτή συνεχούς φθορισμού Chromo 4 και του λογισμικού Opticon monitor 3 (MJ Research, Waltham, MA) χρησιμοποιώντας το kit iScript One-Step RT-PCR με SYBR Green διάλυμα (Bio-Rad, Hercules, CA) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Ειδικά primers που καλύπτουν τα κολλαγόνα τύπου I(α1), III(α1), V(α2), XI(α1) και β-ακτίνη κατασκευάστηκαν και φαίνονται στον πίνακα 2-1. Σε σύντομη περιγραφή 100ng ολικού RNA και 600nM από το κανονικό (forward)

και ανάστροφο (reverse) primer τοποθετήθηκαν σε κάθε αντίδραση. Τα δείγματα ελέγχου (μη ανευρυσματικές αορτές) και τα δείγματα από ανευρύσματα θωρακικής αορτής εξετάστηκαν για κάθε σετ primer εις διπλούν. Αντιδράσεις ελέγχου χωρίς τη χρήση αντίστροφης μεταγραφάσης πραγματοποιήθηκαν για κάθε περίπτωση. Η κινητική της κάθε αντίδρασης προσαρμόστηκε για κάθε ζεύγος primers ως εξής: αντίστροφη μεταγραφή 30 λεπτά στους 60° Κελσίου, μετουσίωση για 2 λεπτά στους 94° Κελσίου, ακολουθούμενη από 60 κύκλους μετουσίωσης 15 δευτερολέπτων στους 94° Κελσίου, ξεπύρωσης για 30 δευτερόλεπτα στους 58° Κελσίου για το κολλαγόνο I-α1, στους 60° Κελσίου για το κολλαγόνο III-α1, στους 61° Κελσίου για το κολλαγόνο V-α2, στους 65° Κελσίου για το κολλαγόνο XI-α1 και στους 60° Κελσίου για την β-ακτίνη και τέλος επέκταση κάθε αντίδρασης για 2 λεπτά στους 68° Κελσίου. Τα τελικά προϊόντα των παραπάνω αντιδράσεων φυλάχθηκαν στους 4° Κελσίου μέχρι της τελικής τους ανάλυσης. Καμπύλες τήξης κατασκευάστηκαν για κάθε αντίδραση το τέλος της κάθε αντίδρασης από τους 60° Κελσίου έως τους 95° Κελσίου. Οι ποσοτικές αλλαγές στην έκφραση των γονιδίων υπολογίστηκαν σύμφωνα με τη μέθοδο Pfaffl.¹⁴² Τέλος τα τελικά προϊόντα κάθε αντίδρασης διαχωρίστηκαν με ηλεκτροφόρηση σε gel αгарόζης και ταυτοποιήθηκαν με άμεση ανάλυση της αλληλουχίας DNA.

Πίνακας 2-1. Απεικονίζονται τα ζεύγη primers που χρησιμοποιήθηκαν για τις αντιδράσεις real time qRT-PCR.

mRNA target	Forward primer	Reverse primer
β-actin	5'-AGCATTCGTTTCGTGTAAATTATG-3'	5'-GTGTGCACTTTTATTCAACTGGTC-3'
Collagen α1(I)	5'-CTCTGACTGGAAGAGTGGAGAGTA-3'	5'-TTGGTGGTTTTGTATTCAATCACT-3'
Collagen α1(III)	5'-AGTGACCGACAAAATTCCAGTTAT-3'	5'-CTTTTACTGGTGAGCACAGTCATT-3'
Collagen α2(V)	5'-TGAGTTGTGGAGCTGACTCTAATC-3'	5'-TAACAGAAGCATAGCACCTTTTCAG-3'
Collagen α1(XI)	5'-GAAATTGTACCTTGGTGCCACCAAC-3'	5'-GGATGGATGAGAATGAGCACCATAT-3'

2.4 Ανάλυση σύμφωνα με τη μέθοδο Western blotting

Δείγματα αορτικού τοιχώματος ολικού πάχους που περιλαμβάνουν και τους 3 χιτώνες της αορτής (έσω, μέσος και έξω χιτώνας) συνθλίφθηκαν με υγρό άζωτο και η εξαγωγή πρωτεϊνών έγινε με τη χρήση του διαλύματος T-PER (Pierce, Rockford, IL). Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης ολικών πρωτεϊνών έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο BCA (Pierce, Rockford, IL). Ολικές πρωτεΐνες (40μg) χρησιμοποιήθηκαν για τυπική ηλεκτροφόρηση σε 10% gel σουλφονικού δωδεκανατρίου σε συνθήκες αναγωγής (κολλαγόνο τύπου III, κολλαγόνο τύπου XI-α1 και β-ακτίνη) ή όχι αναγωγής (κολλαγόνο τύπου I και κολλαγόνο τύπου V). Οι διαχωρισμένες πρωτεΐνες μεταφέρθηκαν σε μεμβράνες PVDF και θα ελέγχθηκαν με τη χρώση Ponceau S και μετά μπλοκαρίστηκαν για 1 ώρα σε 5% άπαχο γάλα σε ρυθμιστικό διάλυμα τρις φυσιολογικού ορού με 0.1% Tween 20. Το αποτύπωμα Western έγινε με κατάλληλα αντισώματα έναντι των κολλαγόνων τύπου I (ab292, διάλυση 1:2000, Abcam Inc, Cambridge, MA), τύπου III (ab6310, διάλυση 1:1000, Abcam Inc, Cambridge, MA), τύπου V (ab19812, διάλυση 1:200, Abcam Inc, Cambridge, MA), τύπου XI-α1 (ευγενική προφορά της Dr. J. T. Oxford, Boise State University, Boise, ID) και β-ακτίνης (ab8227, διάλυση 1:2000, Abcam Inc, Cambridge, MA). Η διάλυση των αντισωμάτων σε ρυθμιστικό διάλυμα τρις φυσιολογικού ορού με Tween και επώαστηκαν με τις μεμβράνες στους 4° Κελσίου κατά τη διάρκεια της νύχτας. Κατόπιν, οι μεμβράνες πλύθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν κατάλληλα δευτερογενή αντισώματα (διάλυση 1:5000, Santa Cruz Biotechnology Inc, Santa Cruz, CA).¹³⁹ Η ανίχνευση των αποτυπωμάτων Western blot έγινε με το kit ECL Plus (Amersham Pharmacia Biotech; Piscataway, NJ). Η ανάλυση πυκνότητας και του ποσοτικού προσδιορισμού έγινε με τη χρήση του λογισμικού ImageJ (Rasband WS).

2.5 Στατιστική ανάλυση

Όλες οι συνεχείς μεταβλητές εκφράστηκαν ως μέση τιμή $\pm$ διακύμανση της μέσης τιμής. Οι διακριτές μεταβλητές εκφράστηκαν ως ποσοστά επί τοις εκατό. Ανεξάρτητα t tests και 1-way ANOVA test χρησιμοποιήθηκαν για τη σύγκριση των μέσων τιμών μεταξύ 2 ή περισσότερων ομάδων αντίστοιχα. Συσχέτιση κατά Spearman,

χ^2 και Fisher's exact test χρησιμοποιήθηκαν για να περιγράψουν τη συσχέτιση μεταξύ των διαφόρων συγκρινόμενων μεταβλητών. Η διόρθωση κατά Bonferroni χρησιμοποιήθηκε για να ισοσταθμίσει για πολλαπλές συγκρίσεις. Τιμές με επίπεδο σημαντικότητας (two-tailed) <0.01 θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικές για κάθε test ώστε να σιγουρέψουν ένα συνολικό επίπεδο σημαντικότητας <0.05 . Όλες οι στατιστικές αναλύσεις έγιναν με το στατιστικό πακέτο SPSS 15.0 (SPSS, Inc, Chicago, IL).

2.6 Σχεδιασμός δεύτερου μέρους της μελέτης

Δείγματα ολικού πάχους αορτικού τοιχώματος συλλέχθηκαν από άνδρες και γυναίκες με φυσιολογικής διαμέτρου ανιούσα θωρακική αορτή και από ασθενείς με ανευρύσματα ανιούσας θωρακικής αορτής. Σ' αυτό το σκέλος της μελέτης συλλέχθηκαν δείγματα από ασθενείς με τρίπτυχες αορτικές βαλβίδες καθώς και από ασθενείς με δίπτυχες αορτικές βαλβίδες. Πρωτεΐνες απομονώθηκαν από 6 δείγματα από ασθενείς με φυσιολογικής διαμέτρου ανιούσα θωρακική αορτή και από 18 δείγματα από ασθενείς με ανεύρσμα ανιούσας θωρακικής αορτής και χρησιμοποιήθηκαν για πρωτεομική ανάλυση προκειμένου να καθοριστούν πιθανοί βιοδείκτες. Μεταγραφικά προϊόντα των ταυτοποιημένων πρωτεϊνών οι οποίες είτε είχαν αυξημένη είτε μειωμένη έκφραση αξιολογήθηκαν ως πιθανοί βιοδείκτες (μεταγραφικά προϊόντα ως κυκλοφορούντες βιοδείκτες) με τη χρήση qRT-PCR σε περιφερικό δείγμα αίματος από 41 ασθενείς με ανευρύσματα ανιούσας θωρακικής αορτής σε σύγκριση με δείγματα από ασθενείς με φυσιολογικής διαμέτρου ανιούσα θωρακική αορτή.

2.7 Δείγματα αορτής και χαρακτηριστικά ασθενών

Τα δείγματα ολικού πάχους αορτικού τοιχώματος προήλθαν από ασθενείς με φυσιολογικής διαμέτρου ανιούσα θωρακική αορτή (3 άνδρες και 3 γυναίκες με μέση ηλικία 62.5 ± 7.8 έτη και μέση διάμετρο αορτής 2.3cm), οι οποίοι ήταν δότες μοσχεύματος για μεταμόσχευση καρδιάς και από ασθενείς που υποβλήθηκαν σε αντικατάσταση ανιούσας θωρακικής αορτής λόγω ανευρύσματος αυτής (35 άνδρες και 6 γυναίκες με μέση ηλικία 65.3 ± 13.9 έτη και μέση διάμετρο αορτής 5.3 ± 0.8 cm). Οι

ασθενείς με ανευρύσματα είχαν είτε τρίπτυχες αορτικές βαλβίδες (24 ασθενείς με μέση ηλικία 71.8 ± 10.8 έτη) είτε δίπτυχες αορτικές βαλβίδες (17 ασθενείς με μέση ηλικία 55.6 ± 12.9 έτη). Οι ασθενείς με ανευρύσματα χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες ανάλογα με τη μέγιστη διάμετρο του ανευρύσματος: μικρά ανευρύσματα με διαμέτρους αορτής από 4.0-4.9cm (19 ασθενείς: 16 άνδρες και 3 γυναίκες), μεσαία ανευρύσματα με διαμέτρους αορτής από 5.0-5.5cm (13 ασθενείς: 10 άνδρες και 3 γυναίκες) και μεγάλα ανευρύσματα με διαμέτρους αορτής >5.5 cm (9 ασθενείς: 6 άνδρες και 3 γυναίκες).

Όλοι οι ασθενείς με ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής υποβλήθηκαν σε προγραμματισμένες επεμβάσεις για αντικατάσταση του ανευρύσματος. Ασθενείς με ανευρύσματα ανιούσας θωρακικής αορτής τα οποία είχαν αποδοθεί σε γενετικά σύνδρομα όπως Marfan, Ehlers-Danlos και Loeys-Dietz ή με άλλα νοσήματα του καρδιαγγειακού συστήματος, καρκίνο ή χρόνιες παθήσεις αποκλείστηκαν από την παρούσα μελέτη. Η ένδειξη για αντικατάσταση του ανευρύσματος ήταν τα 5.5cm για ασθενείς με τρίπτυχη αορτική βαλβίδα και τα 5.0cm για ασθενείς με δίπτυχη αορτική βαλβίδα. Εφόσον υπήρχε ένδειξη για χειρουργική καρδιακών βαλβίδων, η ένδειξη για αντικατάσταση ανευρύσματος μειώθηκε στα 4.0-4.5cm βασισμένη στην ύπαρξη δίπτυχης αορτικής βαλβίδας, νεαρής ηλικίας ή λεπτού αορτικού τοιχώματος. Κανένα από τα δείγματα που αναλύθηκαν στην παρούσα μελέτη δεν είχε αθηρωσκληρωτικές αλλοιώσεις και κανένα δεν επικαλυπτόταν από θρόμβο. Τα δείγματα με φυσιολογική διάμετρο αορτής ελήφθησαν από δότες καρδιακού μοσχεύματος ώστε να διασφαλιστεί η κατά το δυνατόν μικρότερη αλλαγή στη σύσταση της θεμέλιας εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας του αορτικού τοιχώματος.

Τα ερευνητικά πρωτόκολλα εγκρίθηκαν από τις επιτροπές δεοντολογίας στα συμμετέχοντα νοσοκομεία. Τα δείγματα που συλλέχθηκαν ήταν δείγματα ολικού πάχους του αρτηριακού τοιχώματος και συμπεριελάμβαναν και τους τρεις χιτώνες της αορτής (έσω, μέσω και έξω χιτώνα) και συλλέχθηκαν στο χειρουργείο από το δεξιό πλάγιο της ανιούσας θωρακικής αορτής (από το μείζων κοίλο, κατά προσέγγιση από την περιοχή που αντιστοιχεί μεταξύ του δεξιού και του μη στεφανιαίου κόλπου) και ψήχθηκαν φρέσκα και φυλάχθηκαν στους -80°C μέχρι να αναλυθούν.

2.8 Πρωτεομική ανάλυση

Η πρωτεομική ανάλυση έγινε σε 6 ασθενείς με φυσιολογικής διαμέτρου ανιούσα θωρακική αορτή (3 άνδρες και 3 γυναίκες με μέση διάμετρο αορτής 2.3cm) και σε 18 ασθενείς με ανεύρυσμα ανιούσας θωρακικής αορτής. Κάθε ομάδα ανευρυσμάτων ανάλογα με τη διάμετρο του ανευρύσματος περιελάμβανε 6 δείγματα εκ των οποίων 3 ήταν από άνδρες και 3 από γυναίκες και σε άλλη ταξινόμηση 3 από ασθενείς με τρίπτυχη αορτική βαλβίδα και 3 από ασθενείς με δίπτυχη αορτική βαλβίδα. Η μέση ηλικία ήταν 63 ± 8 έτη στην ομάδα με φυσιολογική διάμετρο ανιούσας θωρακικής αορτής, 60 ± 16 έτη στα μικρά ανευρύσματα (4.0-4.9cm), 59 ± 8 έτη στα μεσαία ανευρύσματα (5.0-5.5cm) και 60 ± 16 έτη στα μεγάλα ανευρύσματα (>5.5 cm). Ολικές πρωτεΐνες απομονώθηκαν και η ποιότητα και η καθαρότητά τους ελέγχθηκε με ηλεκτροφόρηση σε gel SDS-poly-acrylamide (PAGE) όπως έχει περιγραφεί αναλυτικά και αλλού. Υψηλής ποιότητας ανάλυσης των πρωτεϊνικών δειγμάτων έγινε στο Genomics and Proteomics Center Core facility of the Beth Israel Deaconess Medical Center με τη χρήση του 8-plex iTRAQ (AB Sciex, Foster City, CA), το πρωτόκολλο ταυτοποίησης και η μεθοδολογία MudPIT συνδυάστηκαν με το όργανο 4800 MALDI TOF/TOF Plus.¹⁴³

2.9 Ανάλυση ποιότητας των πρωτεομικών δεδομένων χωρίς επιτήρηση

Τα πρωτογενή δεδομένα αναλύθηκαν με το λογισμικό ProteinPilot v3.0 χρησιμοποιώντας τον αλγόριθμο Paragon (AB Sciex, Carlsbad, CA). Οι αναζητήσεις πραγματοποιήθηκαν με την τελευταία διαθέσιμη παρουσίαση FASTA η οποία περιλαμβάνεται ανθρώπινη πρωτεϊνική βάση δεδομένων της SwissProt (UniProtKB/Swiss-Prot; release 2010-12 [1/18/2011-2/7/2011] η οποία αποκτήθηκε από τον ιστότοπο <http://www.uniprot.org/downloads>). Οι πρωτεΐνες με score εμπιστοσύνης $>90\%$ και με τουλάχιστον 1 πεπτίδιο με ταυτοποίηση εμπιστοσύνης 95% χρησιμοποιήθηκαν για έλεγχο ποιότητας και για ανάλυση διαφορικής έκφρασης.

2.10 Ανάλυση πρωτεομικών δεδομένων με επιτήρηση

Η ταυτοποίηση των διαφορετικά εκφραζόμενων πρωτεϊνών, δηλαδή οι σχετικές τιμές έκφρασης των πρωτεϊνών συγκρίθηκαν μεταξύ των διαφόρων ομάδων (μικρά ανευρύσματα έναντι φυσιολογικής διαμέτρου αορτή, μεσαία ανευρύσματα έναντι φυσιολογικής διαμέτρου αορτή και μεγάλα ανευρύσματα έναντι φυσιολογικής διαμέτρου αορτή). Τα δείγματα φυσιολογικής διαμέτρου αορτής αντιστοιχήθηκαν για την ηλικία και το φύλο και χρησιμοποιήθηκαν για την ταυτοποίηση της βασικής έκφρασης πρωτεϊνών. Οι πρωτεΐνες θεωρήθηκε ότι υπερεκφράζονταν στα ανευρύσματα σε σχέση με τη φυσιολογική διαμέτρου αορτή όταν ο λόγος από το iTRAQ ήταν μεγαλύτερος από 2.0 και εάν το αντίστοιχο μέγιστο του λόγου φυσιολογικής διαμέτρου αορτή προς φυσιολογική διαμέτρου αορτή ήταν μικρότερο από το λόγο του ανευρύσματος προς τη φυσιολογική διαμέτρου αορτή. Αντίστοιχα οι πρωτεΐνες θεωρήθηκε ότι υποεκφράζονταν στα ανευρύσματα σε σχέση με τη φυσιολογική διαμέτρου αορτή όταν ο λόγος από το iTRAQ ήταν μικρότερος από 0.5 και εάν το αντίστοιχο ελάχιστο του λόγου φυσιολογικής διαμέτρου αορτή προς φυσιολογική διαμέτρου αορτή ήταν μεγαλύτερο από το λόγο του ανευρύσματος προς τη φυσιολογική διαμέτρου αορτή.

2.11 Ανάλυση Western blotting

Ολικά δείγματα πρωτεϊνών (25μg) από αορτικό τοίχωμα ολικού πάχους από το τμήμα της μέγιστης διαμέτρου της ανιούσας θωρακικής αορτής διαχωρίστηκαν σε gel 10% Novex Tris-Glycine (Invitrogen, Carlsbad, CA). Το αποτύπωμα Western blot και η ανάλυση πυκνότητας (Image J analysis software, <http://rsbweb.nih.gov/ij>), έγινε με τη μέθοδο που έχει περιγραφεί στο πρώτο μέρος της μελέτης.¹⁴⁴

2.12 Απομόνωση RNA στο περιφερικό αίμα

Ολικό αίμα συλλέχθηκε σε σωληνάρια PAXgene Blood RNA και φυλάχθηκε στους 4°C μέχρι να αναλυθεί. Ολικό RNA απομονώθηκε από περιφερικό αίμα μέσα σε 5 μέρες από τη συλλογή του με το PAXgene Blood RNA Kit (PreAnalytiX, A Qiagen/BD Company, Valencia, CA, <http://www.preanalytix.com>).

2.13 Ανάλυση real-time qRT-PCR

Η ανάλυση qRT-PCR έγινε σε 13 δείγματα ανευρυσμάτων στα οποία έγινε πρωτεομική ανάλυση και σε επιπλέον 28 δείγματα ανευρυσμάτων. Η ανάλυση qRT-PCR έγινε με τη χρήση ενός Eppendorf Realplex² Mastercycler και τη χρήση αντίστοιχου λογισμικού (Eppendorf North America, Westbury, NY). Για τις αντιδράσεις qRT-PCR χρησιμοποιήθηκε το iScript One-Step RT-PCR kit με το διάλυμα SYBR Green (Bio-Rad, Hercules, CA). Εν συντομία 100ng ολικού RNA και 600nmol/L από το κανονικό (forward) και ανάστροφο (reverse) primer χρησιμοποιήθηκαν σε κάθε αντίδραση. Δείγματα από φυσιολογικής διαμέτρου αορτή και από ανευρύσματα αναλύθηκαν με qRT-PCR σε 3 επαναλήψεις. Αντιδράσεις ελέγχου πραγματοποιήθηκαν χωρίς τη χρήση ανάστροφης μεταγραφάσης για κάθε μία αντίδραση ξεχωριστά.¹⁴³

Τα primers που χρησιμοποιήθηκαν (πίνακας 2-2) σχεδιάστηκαν με το Primer3 (http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi) και παρήχθησαν από την Oligos ETC, Inc (Wilsonville, OR). Η κινητική της κάθε αντίδρασης προσαρμόστηκε για κάθε ζεύγος primers. Η αντίστροφη μεταγραφή του RNA έγινε για 10 λεπτά στους 50°C, ακολουθούμενη από απενεργοποίηση για 5 λεπτά στους 95°C. Η ενίσχυση και η ταυτοποίηση πραγματοποιήθηκε μετά από 40 κύκλους μετουσίωσης 10 δευτερολέπτων στους 95°C, ξεπύρωσης για 10 δευτερόλεπτα στους 60°C, επέκταση κάθε αντίδρασης για 20 δευτερόλεπτα στους 72°C με διάβασμα των δειγμάτων στους 78°C. Τα τελικά προϊόντα των παραπάνω αντιδράσεων φυλάχθηκαν στους 4°C μέχρι της τελικής τους ανάλυσης. Καμπύλες τήξης κατασκευάστηκαν για κάθε αντίδραση στο τέλος της κάθε αντίδρασης από τους 60°C έως τους 95°C. Οι ποσοτικές αλλαγές στην έκφραση των γονιδίων υπολογίστηκαν σύμφωνα με τη μέθοδο delta delta CT (ddCT)¹⁴⁵ όπως καθορίστηκε από την εξίσωση: $\text{fold change} = 2^{[(Ct_{\text{target gene}} - Ct_{18s})_{\text{sample}} - (Ct_{\text{target gene}} - Ct_{18s})_{\text{control}}]}$. Τέλος τα τελικά προϊόντα κάθε αντίδρασης διαχωρίστηκαν με ηλεκτροφόρηση σε gel αгарόζης και ταυτοποιήθηκαν με άμεση ανάλυση της αλληλουχίας DNA.

Πίνακας 2-2. Απεικονίζονται τα ζεύγη primers που χρησιμοποιήθηκαν για τις αντιδράσεις real time qRT-PCR.

Oligonucleotide primers used for quantitative real time RT-PCR reactions.

mRNA target	Forward primer	Reverse primer
18s	5'-ATGGCCGTTCTTAGTTGGTG-3'	5'-CGCTGAGCCAGTCAGTGTAG-3'
FHL1	5'-CCTGGTCTAGGCCATCACAT-3'	5'-TCTTGCATCCAGCACACTTC-3'
ENO1	5'-GGAGCTTGGCAGAAGTTCAC-3'	5'-TGATTACAAAGCCGTAGCTG-3'
CSRP1	5'-AAGTCCTGCTACGGCAAGAA-3'	5'-CACCAATCTTCTGGGCAAAT-3'
CRP2	5'-CCCACCTGCCAGTGTATTT-3'	5'-TTGACAGCACAAAGGCTCAAC-3'
PPIA	5'-TGTTTGTGGTTGCCAGTCAT-3'	5'-TCGAGTTGTCCACAGTCAGC-3'
Col α1(I)	5'-CTCTGACTGGAAGAGTGGAGAGTA-3'	5'-TTGGTGGTTTTGTATTCAATCACT-3'
Col α1(III)	5'-AGTGACCGACAAAATTCCAGTTAT-3'	5'-CTTTTACTGGTGAGCACAGTCATT-3'
Col α2(V)	5'-TGAGTTGTGGAGCTGACTCTAATC-3'	5'-TAACAGAAGCATAGCACCCTTCAG-3'
Col α1(XI)	5'-GAAATTGTACCTTGGTGCCACCAAC-3'	5'-GGATGGATGAGAATGAGCACCATAT-3'

2.14 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση έγινε με το λογισμικό SAS (έκδοση 6.12, SAS Institute, Cary, NC). Η μέση τιμή±το σφάλμα της μέσης τιμής υπολογίστηκε για όλες τις μεταβλητές σε όλο το δείγμα. Οι στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαφόρων ομάδων αξιολογήθηκαν με το στατιστικό One-way ANOVA test, το οποίο χρησιμοποιήθηκε και για τη σύγκριση των δημογραφικών δεδομένων. Το Dunnett's test χρησιμοποιήθηκε για συγκρίσεις μεταξύ της ομάδας με της φυσιολογικής διαμέτρου αορτή και των ομάδων των ανευρυσμάτων μετά από ισοστάθμιση για την πολλαπλότητα των συγκρίσεων. Το Fisher's exact test χρησιμοποιήθηκε για συγκρίσεις των αναλογιών μεταξύ διαφόρων qRT-PCR γονιδίων στόχων σε σχέση με ανευρύσματα σε σύγκριση με δείγματα με φυσιολογικής διαμέτρου αορτή. Η ισχύς της μελέτης υπολογίστηκε με το G*Power 3.1.5 (www.psych.uni-duesseldorf.de/abteilungen/app/qpower3/download-and-register). Σε test με θετική τιμή για την ομάδα με φυσιολογική αορτή=0.1, test με θετική τιμή ανευρύσματος ανιούσας θωρακικής αορτής=0.8, με α λάθος=0.05 και β λάθος=0.05, χρειάζονται 6 δείγματα στην ομάδα με φυσιολογικής διαμέτρου αορτή και 36 δείγματα ανευρυσμάτων ανιούσας θωρακικής αορτής. Η ευαισθησία και η ειδικότητα του test της qRT-PCR για

κάθε γονίδιο ή συνδυασμό γονιδίων υπολογίστηκαν με 95% διαστήματα εμπιστοσύνης. Τα αποτελέσματα ευαισθησίας/ειδικότητα μετρήθηκαν ως αυξημένη θετική αναλογία του γονιδίου μεταξύ των ασθενών με ανευρύσματα (ευαισθησία) και αρνητική αναλογία μεταξύ των ασθενών με φυσιολογικής διαμέτρου ανιούσα θωρακική αορτή (ειδικότητα) σε σύγκριση με την ομάδα με φυσιολογικής διαμέτρου ανιούσα θωρακική αορτή.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Αορτικά δείγματα και δημογραφικά χαρακτηριστικά των ασθενών

Σ' αυτό το σκέλος της μελέτης αναλύθηκαν 32 δείγματα ανιούσας θωρακικής αορτής από ασθενείς που υποβλήθηκαν σε καρδιοχειρουργικές επεμβάσεις. Επτά δείγματα προέρχονταν από ασθενείς που υποβλήθηκαν σε μεταμόσχευση καρδιάς και είχαν φυσιολογικής διαμέτρου ανιούσα θωρακική αορτή (μέση διάμετρος αορτής 2.3cm) και χρησιμοποιήθηκαν ως ομάδα ελέγχου. Είκοσι-πέντε ασθενείς υποβλήθηκαν σε αντικατάσταση ανιούσας θωρακικής αορτής λόγω ανευρύσματος (μέση διάμετρος 6.8cm, $P<0.001$ σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου). Αυτή η ομάδα ασθενών χωρίστηκε σε μικρά ανευρύσματα ($n=9$, μέσης διαμέτρου 5.6cm), μεσαία ανευρύσματα ($n=8$, μέσης διαμέτρου 6.5cm) και μεγάλα ανευρύσματα ($n=8$, μέσης διαμέτρου 8.4cm). Οι ασθενείς με ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής δεν είχαν διαφορές στην ηλικία, το κάπνισμα, την υπέρταση ή το φύλο (πίνακας 3-1). Οι ασθενείς με φυσιολογικής διαμέτρου ανιούσα θωρακική αορτή ήταν νεώτεροι σε ηλικία ($P<0.001$) με μικρότερα ποσοστά υπέρτασης ($P<0.001$). Όλες οι αορτικές βαλβίδες των ασθενών με ανευρύσματα ήταν τρίπτυχες έτσι να εξεταστεί μία ομοιογενής ομάδα ασθενών. Κανένα από τα δείγματα ανευρυσμάτων που αναλύθηκαν δεν ήταν αθηροσκληρωτικό και κανένα δεν επικαλυπτόταν από θρόμβο. Τα δείγματα αορτής της ομάδας ελέγχου ελήφθησαν από δότες έτσι ώστε να διασφαλιστεί ότι αυτές οι αορτές φυσιολογικής διαμέτρου θα έχουν το δυνατόν ελάχιστες αλλαγές στη σύνθεση της θεμέλιας εξωκυττάριας ουσίας.

Πίνακας 3-1. Δημογραφικά στοιχεία ασθενών της μελέτης.

	All patients	Controls	Aortic Diameter 5-6cm	Aortic Diameter 6-7cm	Aortic Diameter >7cm
Number	32	7	9	8	8
Aortic diameter in cm (mean±SD)	5.7±2.4	2.3±0.3	5.6±0.2	6.5±0.2	8.4±1.2
Age (mean±SD)	61.3±10.3	45.1±9.1	65.9±5.6	64.5±3.5	67.1±3.1
Male gender, n (%)	28 (88)	6 (86)	7 (78)	7 (88)	7 (88)
Hypertension, n (%)	23 (72)	2 (29)	6 (67)	6 (75)	7 (88)
Smoking, n (%)	14 (44)	2 (29)	5 (56)	4 (50)	3 (38)

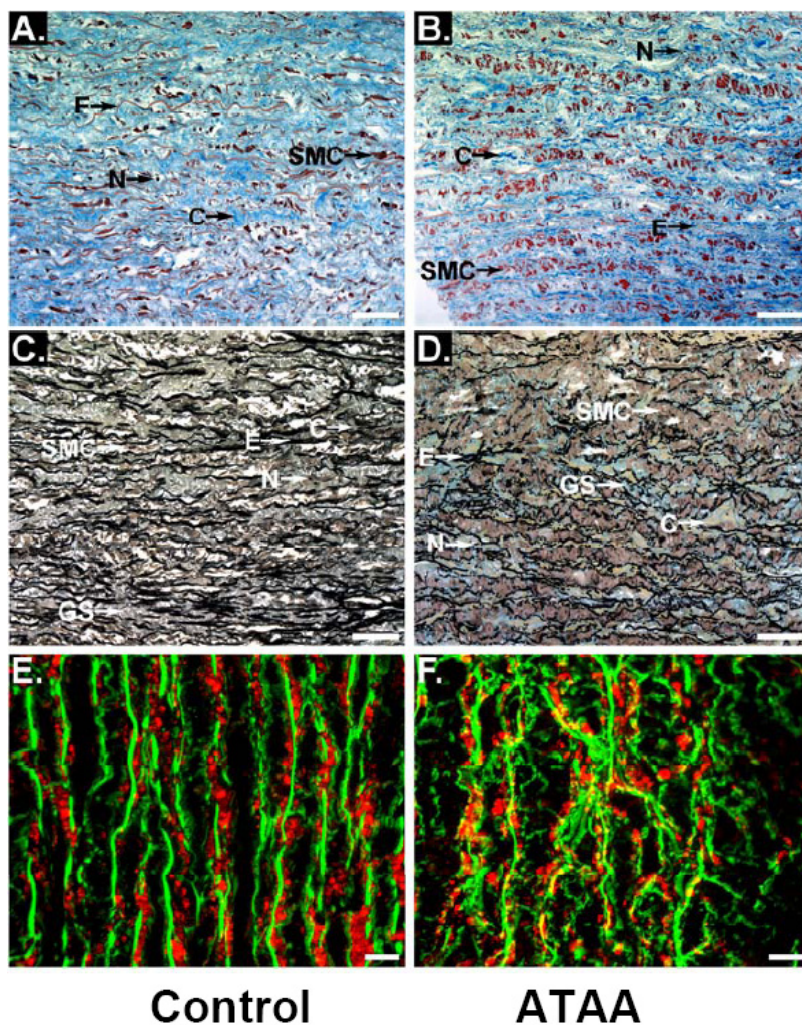
3.2 Ιστολογική ανάλυση, ανάλυση ανοσοφθορισμού, ανοσοϊστοχημείας και ηλεκτρονικής μικροσκοπικής

Η ιστολογική ανάλυση με τη χρήση των χρώσεων Masson's trichrome και Movat's pentachrome, ο ανοσοφθορισμός, καθώς και η ηλεκτρονική μικροσκοπική κατέδειξαν ότι τόσο η ελαστίνη όσο και το κολλαγόνο είχαν μεγάλη αποδιοργάνωση στην κανονικότητά τους και κατακερματισμό των ινιδίων τους σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (εικόνα 3-1 και εικόνα 3-2). Αυτές οι διαφορές αναδεικνυόταν σταθερά σε όλα τα δείγματα.

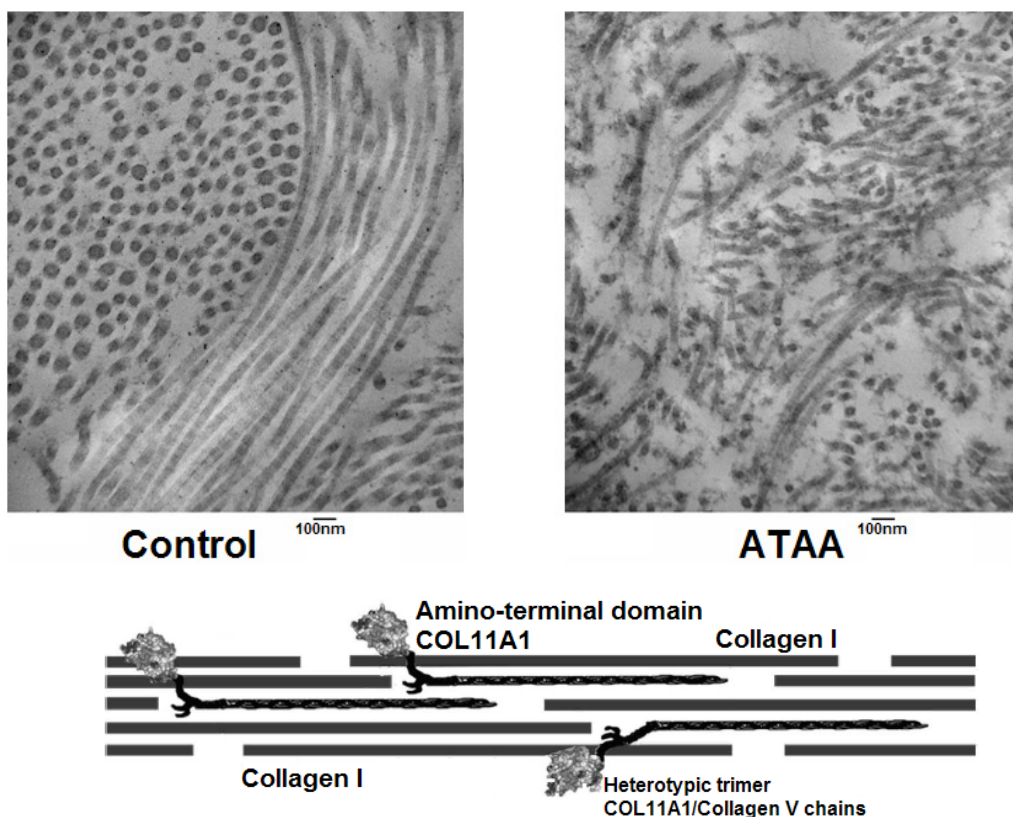
Η ανοσοϊστοχημική χρώση έδειξε ότι το κολλαγόνο τύπου XI-a1 εκφραζόταν τόσο στη φυσιολογική όσο και στην ανευρυσματική αορτή. Η έκφραση του κολλαγόνου τύπου XI-a1 ήταν πιο ομοιόμορφα κατανεμημένη στη θεμέλια εξωκυττάρια ουσία της ομάδας ελέγχου, ενώ η χρώση στην ομάδα των ανευρυσμάτων ήταν πολύ πιο τονισμένη. Η ένταση της χρώσης του κολλαγόνου τύπου XI-a1 ήταν δραματικά αυξημένη σε περιοχές με αλλοιώσεις κυστικής εκφύλισης του μέσου χιτώνα (εικόνα 3-3).

Ένα άλλο σημαντικό εύρημα ήταν η στατιστικά σημαντική μείωση κατά 25% της διαμέτρου των ετεροτυπικών ινιδίων κολλαγόνου στο μέσο χιτώνα της αορτής των ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής σε σύγκριση με τις ανιούσες θωρακικές αορτές φυσιολογικής διαμέτρου (από $0.048 \pm 0.006 \mu\text{m}$ στις φυσιολογικές αορτές σε $0.036 \pm 0.006 \mu\text{m}$ στις ανευρυσματικές αορτές, $P < 0.001$), όπως μετρήθηκαν στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (εικόνα 3-4).

Εικόνα 3-1. Ιστολογική ανάλυση με χρώση Masson τριχρωμική (A,B), Movat πενταχρωμική (C,D) και ανάλυση ανοσοφθορισμού για κολλαγόνο τύπου I (E,F). Οι αριστερές εικόνες είναι από φυσιολογικής διαμέτρου ανιούσα αορτή και οι δεξιές από ανευρυσματική ανιούσα αορτή. Σε όλες τις εικόνες απεικονίζεται ο μέσος χιτώνας της αορτής. Ινίδια κολλαγόνου (C), λεία μυικά κύτταρα (SMC), ελαστίνη (E) πυρήνες κυττάρων (N) και άμορφη ουσία (GS) απεικονίζονται με βελάκια. Η κλίμακα αντιστοιχεί σε 50μm. Στον ανοσοφθορισμό με κόκκινο απεικονίζεται το κολλαγόνο τύπου I και με πράσινο χρώμα οι ίνες ελαστίνης. Οι διαφορές του φυσιολογικού μέσου χιτώνα από αυτόν της ανευρυσματικής αορτής είναι εμφανείς, παρόλα αυτά με αυτές τις μεθόδους δεν μπορούν να ποσοτικοποιηθούν.

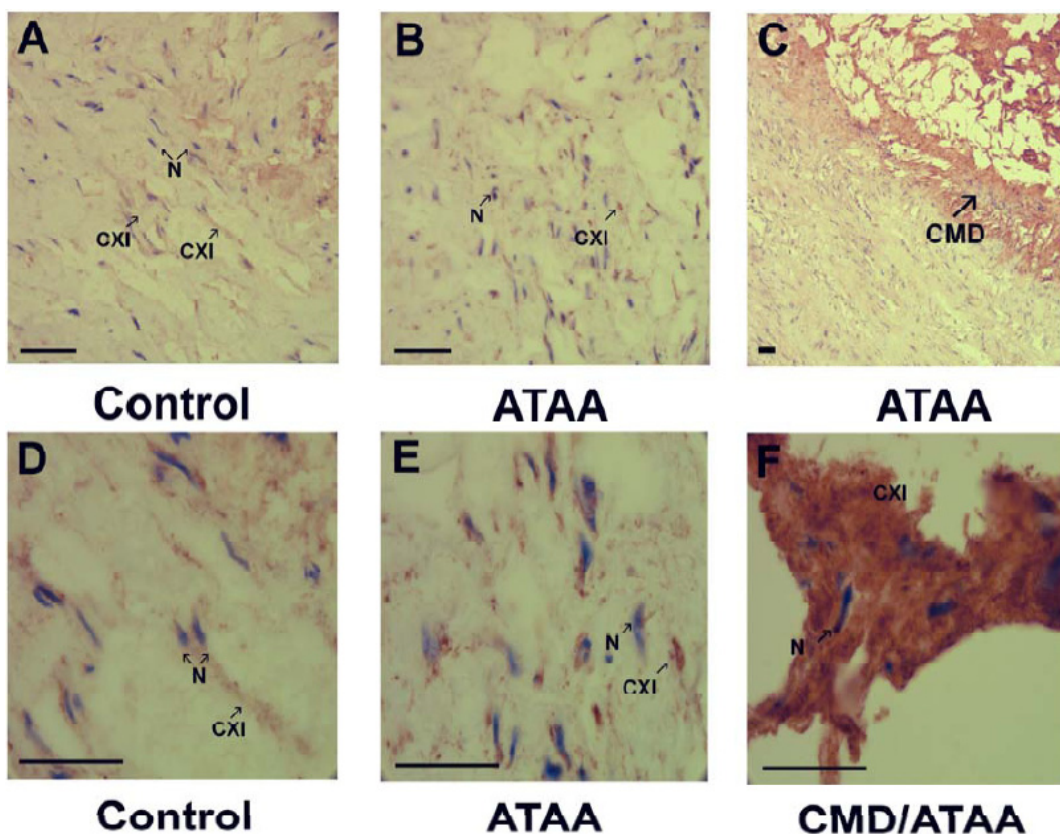


Εικόνα 3-2. Αντιπροσωπευτικές εικόνες από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σαρώσεως από φυσιολογική αορτή αριστερά και ανευρυσματική αορτή δεξιά ίδιας μεγέθυνσης. Τα ινίδια κολλαγόνου αναδεικνύονται σε εγκάρσιες και επιμήκεις τομές. Τα ινίδια κολλαγόνου στο ανεύρυσμα της ανιούσας αορτής είναι κατακερματισμένα, ενώ έχουν χάσει τον προσανατολισμό τους όταν συγκριθούν με τη φυσιολογική αορτή. Επιπλέον μία αδρή σύγκριση του πάχους/διαμέτρου των ινιδίων κολλαγόνου μεταξύ της φυσιολογικής και ανευρυσματικής αορτής αναδεικνύει μικρότερης διαμέτρου ινίδια στο ανεύρυσμα της ανιούσας αορτής, γεγονός που συμβαδίζει με την αρχική υπόθεση της παρούσας μελέτης η οποία υποστηρίζει ότι η υπερπαραγωγή των δευτερευόντων τύπων κολλαγόνου V και XI(α 1) που σχηματίζουν ινίδια οδηγεί σε μικρότερης διαμέτρου ινιδίων κολλαγόνου μέσω στερικής παρεμπόδισης όπως σχηματικά αποδίδεται παρακάτω.

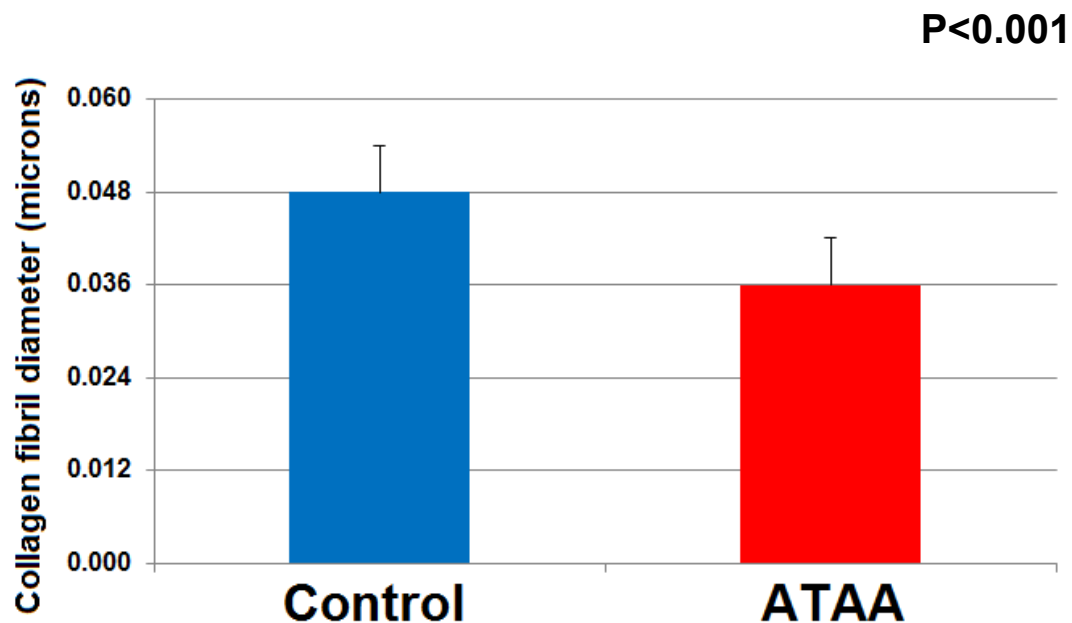
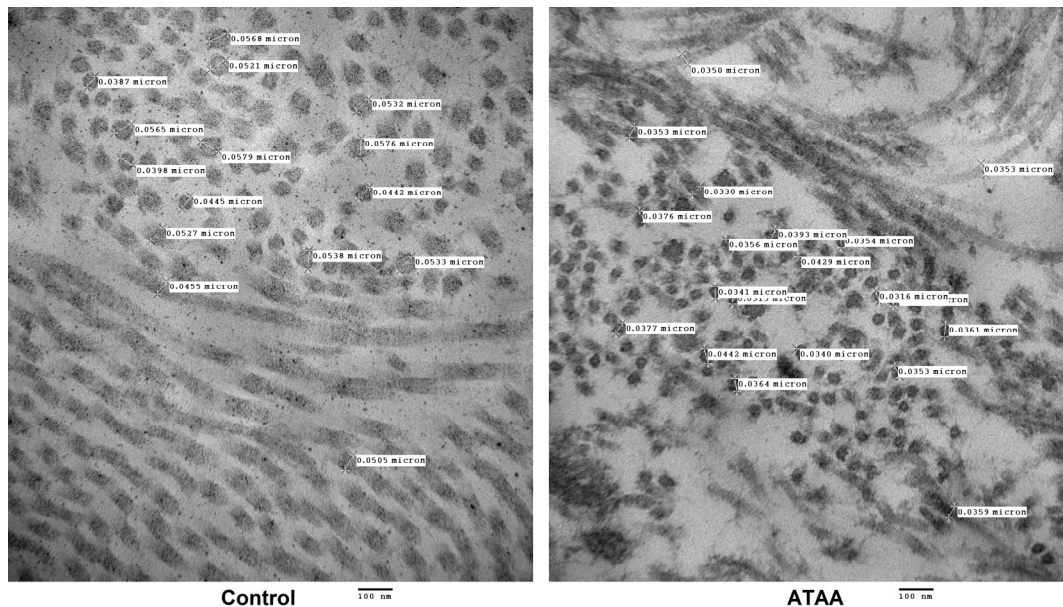


Απεικονίζονται διαγραμματικά τα ογκώδη αμινο-τελικά τμήματα του κολλαγόνου τύπου XI- α 1 τα οποία παρεμποδίζουν τη δημιουργία μεγαλύτερης διαμέτρου ετεροτυπικών ινιδίων. Το κολλαγόνο τύπου XI- α 1 μπορεί να σχηματίζει τριπλές αλυσίδες κολλαγόνου συνδυαζόμενο με αλυσους κολλαγόνου τύπου V.

Εικόνα 3-3. Ανοσοϊστοχημική ανάλυση για κολλαγόνο τύπου XI-α1. Οι εικόνες A και B είναι από φυσιολογική αορτή και ανευρυσματική αντίστοιχα σε μεγέθυνση X200. Η κυστική εκφύλιση του μέσου χιτώνα σε ανεύρυσμα της ανιούσας θωρακικής αορτής που απεικονίζεται στην εικόνα C έχει μεγέθυνση X50. Οι εικόνες D, E, F προέρχονται από φυσιολογική, ανευρυσματική αορτή και ανευρυσματική αορτή σε περιοχή με κυστική εκφύλιση του μέσου χιτώνα αντίστοιχα και έχουν όλες μεγέθυνση X630. Σε όλες τις τομές έγινε χρώση με ειδικό αντίσωμα έναντι του κολλαγόνου τύπου XI-α1 και απεικονίζεται χρώση με καφέ χρώμα στο μέσο χιτώνα τόσο στη φυσιολογική όσο και στην ανευρυσματική αορτή (CXI). Έγινε επίσης χρώση αιματοξυλίνης για την ανάδειξη πυρήνων των λείων μυϊκών κυττάρων με μπλε απόχρωση (N). Μία μεγάλη αύξηση της έντασης της χρώσης για κολλαγόνο τύπου XI-α1 παρατηρείται στις περιοχές με κυστική εκφύλιση του μέσου χιτώνα που συνδέονται ιστοπαθολογικά με την ύπαρξη ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής.



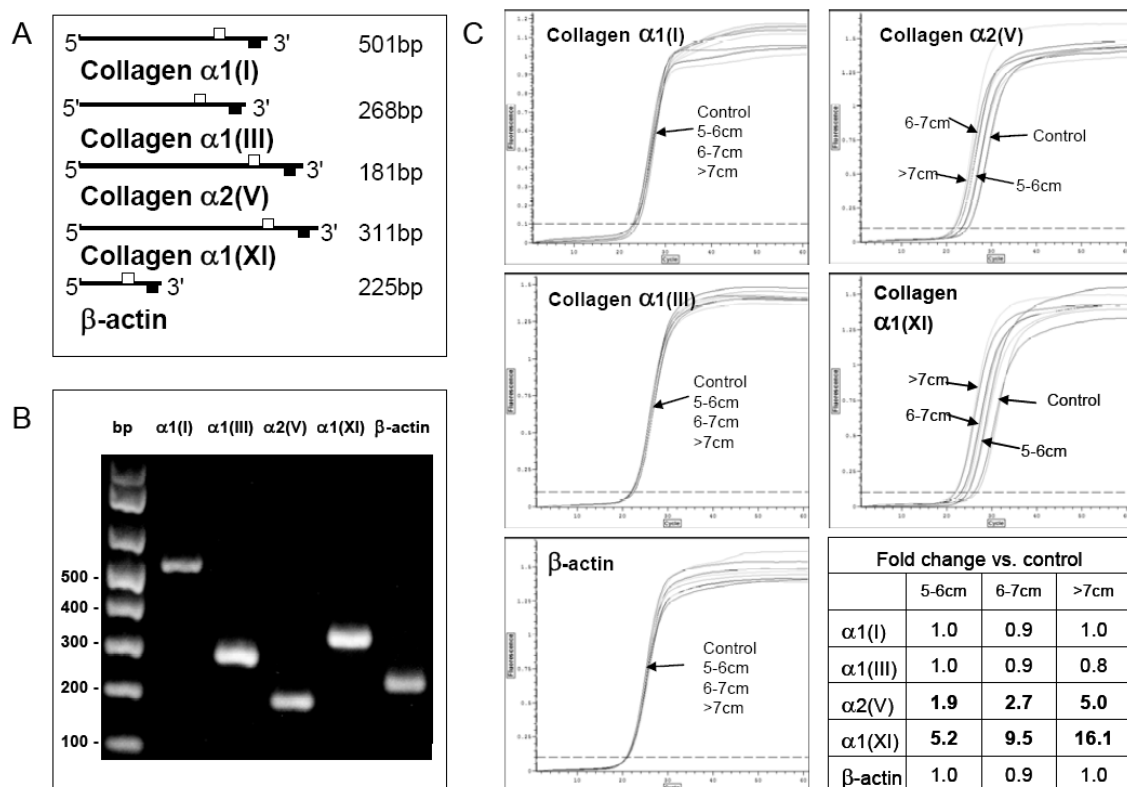
Εικόνα 3-3. Υπολογισμός και σύγκριση της διαμέτρου των ινιδίων κολλαγόνου της φυσιολογικής διαμέτρου και ανευρυσματικής ανιούσας θωρακικής αορτής από εικόνες υψηλής ανάλυσης με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.



3.3 Ανάλυση qRT-PCR

Η ανάλυση qRT-PCR έδειξε κατ' αρχήν μόνο ένα προϊόν για κάθε ζεύγος primer το οποίο αντιστοιχούσε στο προβλεπόμενο μοριακό βάρος. Η ανάλυση αλληλουχίας DNA επιβεβαίωσε ότι τα προϊόντα που απομονώθηκαν αντιστοιχούσαν στα γονίδια τα οποία αναλύθηκαν. Υπήρξε μία σημαντική αύξηση στην έκφραση των κολλαγόνων τύπου V-α2 και XI-α1 στα ανευρύσματα σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ($P < 0.001$). Τα επίπεδα του κολλαγόνου τύπου V-α2 αυξήθηκαν κατά 1.9-, 2.7- και 5.0- φορές και του κολλαγόνου τύπου XI-α1 αυξήθηκαν κατά 5.2-, 9.5- και 16.1-φορές στα μικρά, μεσαία και μεγάλα ανευρύσματα αντίστοιχα σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην έκφραση των επιπέδων των κολλαγόνων τύπου I-α1 και III-α1 καθώς και της β-ακτίνης μεταξύ των διαφόρων υποομάδων (εικόνα 3-5).

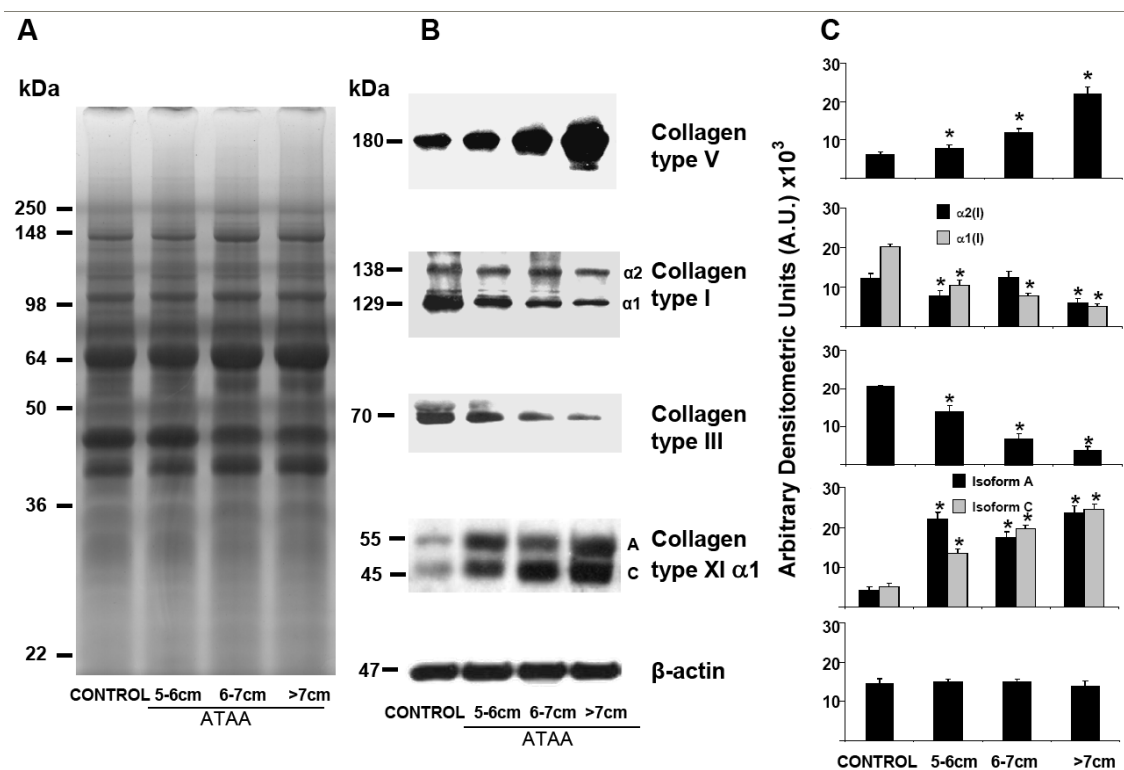
Εικόνα 3-5. Ποσοτική αντίδραση αντίστροφης μεταγραφάσης αλυσωτής αντίδρασης πολυμεράσης. Στην εικόνα Α απεικονίζεται το είδος μέγεθος σε ζεύγη βάσεων DNA των προϊόντων της αντίδρασης. Στην εικόνα Β παρουσιάζεται ένα αντιπροσωπευτικό gel αгарόζης 1.5% των τελικών προϊόντων κάθε αντίδρασης που επιβεβαιώνει το σωστό τους μέγεθος, ενώ τα προϊόντα αυτά ταυτοποιήθηκαν περαιτέρω με ανάλυση της αλληλουχίας DNA και επιβεβαιώθηκε η αντιστοιχία τους με τα αναμενόμενα προϊόντα. Στην εικόνα C απεικονίζονται οι καμπύλες των αντιδράσεων για τους διάφορους τύπους κολλαγόνων, καθώς και της β-ακτίνης που χρησιμοποιήθηκε ως προϊόν ελέγχου. Οι τέσσερις ομάδες που αναλύθηκαν σε σχέση με το μέγεθος του ανευρύσματος σημειώνονται με βελάκια, ενώ οι αλλαγές στα επίπεδα έκφρασης των mRNA των διαφόρων τύπων κολλαγόνου σε σχέση με την ομάδα της φυσιολογικής αορτής φαίνονται στον πίνακα δεξιά κάτω. Είναι φανερή η μεγάλη αύξηση στα επίπεδα του mRNA των αλυσίδων κολλαγόνων τύπου V-α2 και XI-α1.



3.4 Ανάλυση Western Blotting

Τα αποτυπώματα Western blots (εικόνα 3-6) του κολλαγόνου τύπου I ανέδειξαν δύο μπάντες στα 138kDa και 129kDa που αντιστοιχούν στις αλυσίδες α1 και α2 του κολλαγόνου τύπου I. Τα επίπεδα πρωτεΐνης του κολλαγόνου τύπου I-α1 ήταν σημαντικά μειωμένα σε όλες τις υποομάδες των ανευρυσμάτων σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου ($P < 0.001$), ενώ τα επίπεδα του κολλαγόνου I-α2 ήταν σημαντικά μειωμένα στα μικρά και μεγάλα ανευρύσματα σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου ($P < 0.001$). Τα επίπεδα πρωτεΐνης του κολλαγόνου τύπου III ήταν σημαντικά μειωμένα σε όλες τις ομάδες ανευρυσμάτων σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου ($P < 0.001$). Τα επίπεδα πρωτεΐνης του κολλαγόνου τύπου V ήταν σημαντικά αυξημένα σε όλες τις ομάδες ανευρυσμάτων σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου ($P < 0.001$). Τα αποτυπώματα Western blots του κολλαγόνου τύπου XI-α1 ανέδειξαν δύο μπάντες στα 55kDa και 45kDa που αντιστοιχούν σε δύο διαφορετικές ισομορφές. Και οι δύο ισομορφές του κολλαγόνου XI-α1 ήταν σημαντικά αυξημένες στα ανευρύσματα σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ($P < 0.001$).

Εικόνα 3-6. Ανάλυση αποτυπώματος πρωτεϊνών με τη μέθοδο Western. Στην εικόνα A απεικονίζεται ένα αντιπροσωπευτικό gel 10% SDS πολυακρυλαμιδίου που έχει υποστεί χρώση με Coomassie brilliant blue για κάθε κλινική ομάδα ανευρυσμάτων. Στην εικόνα B απεικονίζονται αντιπροσωπευτικά αποτυπώματα πρωτεϊνών με τη μέθοδο Western. Η ανάλυση πυκνότητας των αποτυπωμάτων Western φαίνεται στην εικόνα C, όπου φαίνονται ξεκάθαρα τα μειούμενα επίπεδα κολλαγόνου τύπου I και III και τα αυξανόμενα επίπεδα κολλαγόνου τύπου V και XI(α 1) όσο αυξάνεται το μέγεθος του ανευρύσματος.

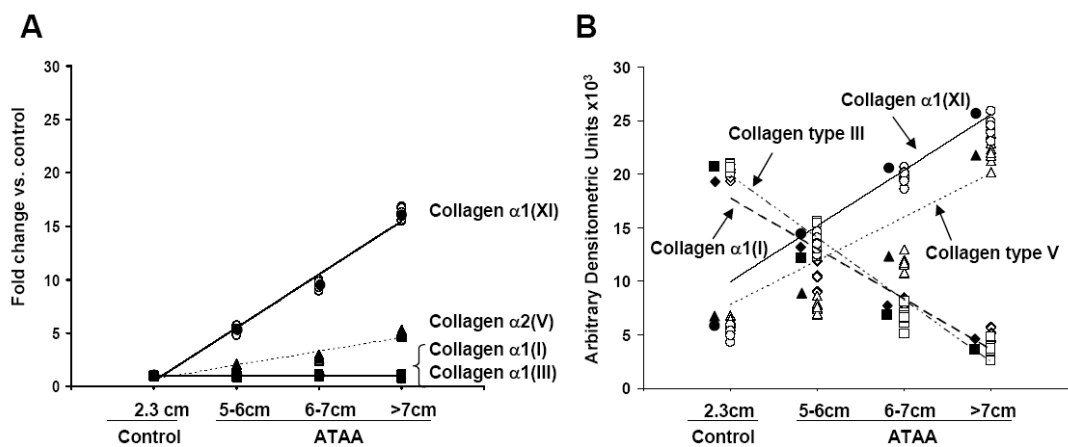


3.5 Ανάλυση συσχέτισης κατά Spearman

Η ανάλυση συσχέτισης κατά Spearman έγινε για τα επίπεδα έκφρασης του mRNA και των πρωτεϊνών σε σχέση με το μέγεθος του ανευρύσματος (εικόνα 3-7). Τα αυξημένα επίπεδα έκφρασης mRNA για το κολλαγόνο τύπου XI-α1 και V-α2 εμφάνισαν γραμμική συσχέτιση με το μέγεθος του ανευρύσματος ($P < 0.001$ και για τα δύο). Δεν παρατηρήθηκε γραμμική συσχέτιση των επιπέδων mRNA του κολλαγόνου τύπου I-α1 ($r = -0.020$) και του κολλαγόνου τύπου III-α1 ($r = -0.063$) με το μέγεθος του ανευρύσματος.

Τα μειούμενα πρωτεϊνικά επίπεδα έκφρασης του κολλαγόνου τύπου I-α1 και του κολλαγόνου τύπου III συσχετίστηκαν γραμμικά με το μέγεθος του ανευρύσματος. ($P < 0.001$ και για τα δύο). Τα αυξανόμενα πρωτεϊνικά επίπεδα έκφρασης του κολλαγόνου τύπου XI-α1 και του κολλαγόνου τύπου V συσχετίστηκαν γραμμικά με το μέγεθος του ανευρύσματος. ($P < 0.001$ και για τα δύο).

Εικόνα 3-7. Συσχέτιση κατά Spearman της έκφρασης των επιπέδων του mRNA (A) και των πρωτεϊνικών επιπέδων των διαφόρων τύπου κολλαγόνου σε σχέση με το μέγεθος του ανευρύσματος. Υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση της αύξησης των επιπέδων του mRNA των κολλαγόνων τύπου V-α2 και XI-α1 με το μέγεθος του ανευρύσματος της αορτής και αντίστοιχη στατιστικά σημαντική συσχέτιση της μείωσης των επιπέδων πρωτεΐνης κολλαγόνων τύπου I και III και αύξησης των επιπέδων κολλαγόνων τύπου V και XI-α1 με το μέγεθος του ανευρύσματος της αορτής.



3.6 Δείγματα ανιούσας θωρακικής αορτής για πρωτεομική ανάλυση

Τα δείγματα για πρωτεομική ανάλυση προέρχονταν από 6 ασθενείς (3 άνδρες και 3 γυναίκες) που αποτέλεσαν δότες μοσχεύματος καρδιάς και είχαν φυσιολογικής διαμέτρου ανιούσα αορτή (μέση διάμετρος 2.3cm). Τα δείγματα από ανευρυσματικές ανιούσες θωρακικές αορτές προέρχονταν από 18 ασθενείς και χωρίστηκαν με βάση τη διάμετρο του ανευρύσματος. Κάθε ομάδα αποτελούνταν από 6 δείγματα από τα οποία 3 ήταν από άνδρες και 3 από γυναίκες. Επίσης, κάθε ομάδα περιελάμβανε 3 δείγματα από ασθενείς με τρίπτυχη αορτική βαλβίδα και 3 δείγματα από ασθενείς με δίπτυχη αορτική βαλβίδα. Η μέση ηλικία των ασθενών ήταν 65 ± 14 έτη στην ομάδα με τις φυσιολογικής διαμέτρου ανιούσα αορτή, 60 ± 16 έτη στην ομάδα με τα μικρά ανευρύσματα ανιούσας θωρακικής αορτής (διάμετρος αορτής 4.0-4.9cm), 59 ± 8 έτη στην ομάδα με τα μεσαία ανευρύσματα (διάμετρος αορτής 5.0-5.5cm) και 60 ± 16 έτη στην ομάδα με τα μεγάλα ανευρύσματα (διάμετρος αορτής >5.5 cm).

3.7 Πρωτεομική ανάλυση

Ταυτοποιήθηκαν συνολικά 3396 πρωτεΐνες με αξιοπιστία σύμφωνα iTRAQ, από τις οποίες 369 ταυτοποιήθηκαν με εμπιστοσύνη $>95\%$ ($P < 0.05$). Από τις 369 πρωτεΐνες 82 ήταν κοινές και εκφράστηκαν σε όλες τις ομάδες ανευρυσμάτων και στην ομάδα με φυσιολογικής διαμέτρου ανιούσα θωρακική αορτή (ομάδα ελέγχου).

Η κύρια πρωτεομική ανάλυση φαίνεται στην εικόνα 3-8Α. Η κύρια ανάλυση προβάλλει στοιχεία πολυπαραγοντικής ανάλυσης σε ένα μικρότερο διάστημα ενώ παράλληλα διατηρεί όσο το δυνατόν περισσότερη από την πρωταρχική διακύμανση. Αυτό είναι απαραίτητο γιατί κατά την ανάλυση πρωτεομικών δεδομένων, λόγω προβλήματος διαστάσεων, ο αριθμός πρωτεϊνών πάντα ξεπερνά σε σημαντικό βαθμό των αριθμό των δειγμάτων. Κάθε πρωτεΐον στοιχείο της ανάλυσης συνδέεται με μία ιδιοτιμή, η οποία αντιστοιχεί στο ποσό της διακύμανσης που εξηγείται από το αντίστοιχο πρωτεΐον στοιχείο. Η ιδιοτιμή (eigenvalue) αποτελεί μία μέτρηση της δύναμης κάθε πρωτεΐοντος στοιχείου.

Η κύρια πρωτεομική ανάλυση χρησιμοποιείται για να μετατρέψει μία σειρά από παρατηρήσεις πιθανά συσχετιζόμενων μεταβλητών σε μία σειρά μη συσχετιζόμενων

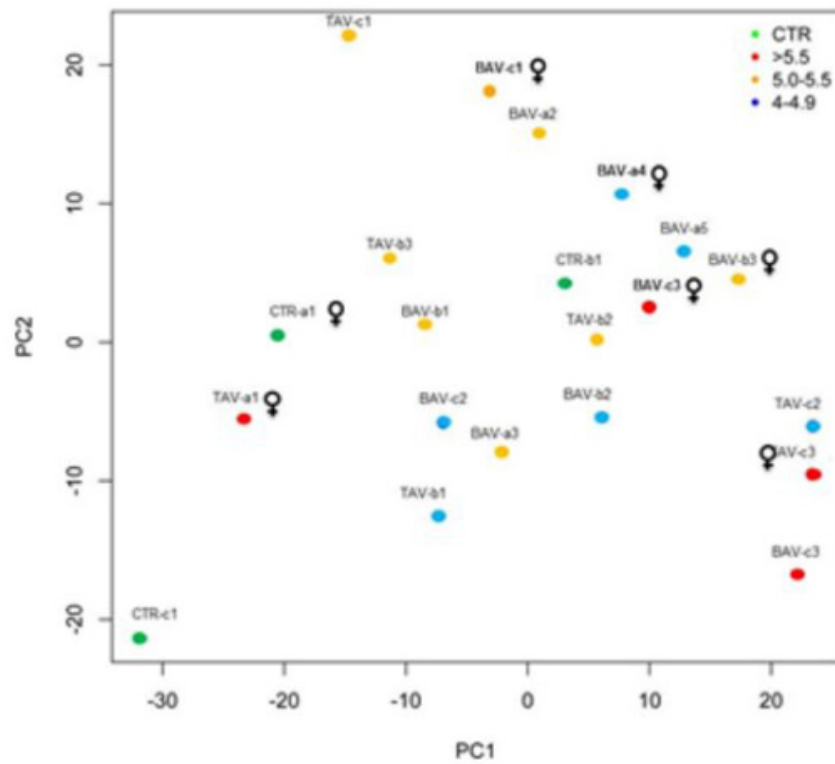
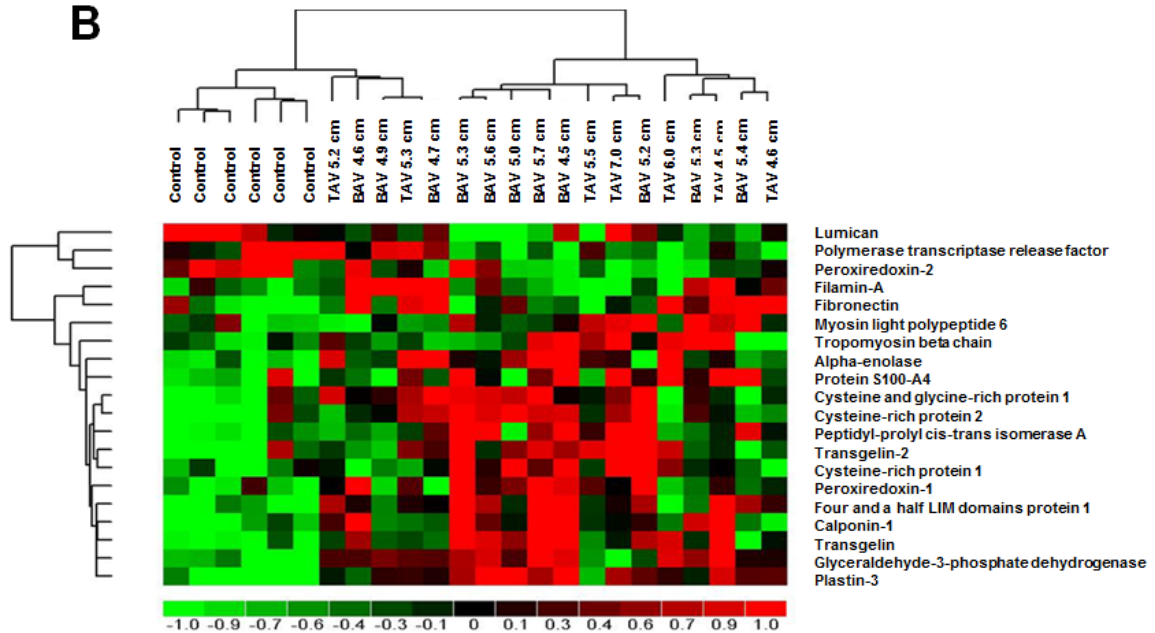
μεταβλητών που ονομάζονται πρωτεύοντα στοιχεία. Η πρώτη κύρια πρωτεομική ανάλυση έχει την υψηλότερη δυνατή διακύμανση, και συνεπώς αντιστοιχεί στη μεγαλύτερη μεταβλητότητα των δεδομένων. Η δεύτερη κύρια πρωτεομική ανάλυση έχει τη δεύτερη υψηλότερη διακύμανση των δεδομένων κοκ.

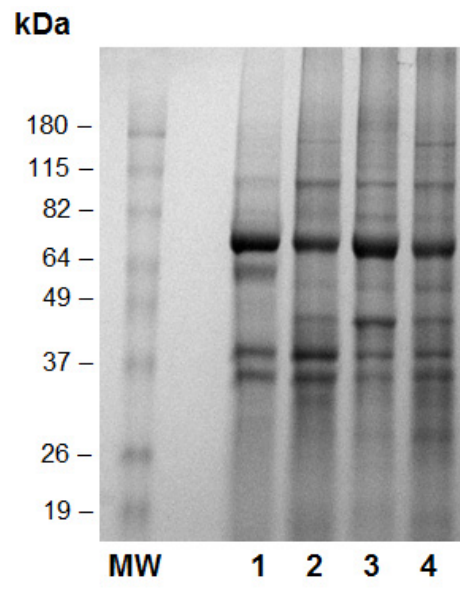
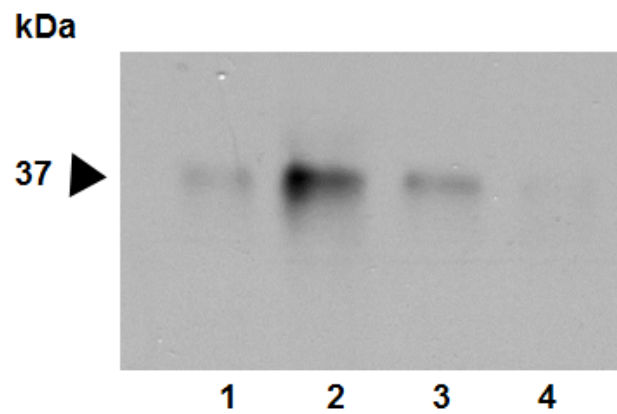
Στην παρούσα μελέτη η κύρια πρωτεομική ανάλυση κατέδειξε ότι δεν υπάρχει διαφορά στα παρατηρούμενα πρότυπα έκφρασης πρωτεϊνών μεταξύ ανευρυσμάτων με τρίπτυχες έναντι δίπτυχων αορτικών βαλβίδων και ανδρών έναντι γυναικών (εικόνα 3.8A). Παρόλα αυτά, η σύγκριση όλων των ανευρυσμάτων (μικρά, μεσαία και μεγάλα) με τις φυσιολογικής διαμέτρου αορτές οδήγησε στην ταυτοποίηση 26 μοναδικών πρωτεϊνών σύμφωνα με την αξιοπιστία του iTRAQ οι οποίες είτε υπερ- είτε υπο-εκφράζονταν (εικόνα 3-8B). Τέσσερις από αυτές τις πρωτεΐνες (calponin-1, plastin-3 και peptidyl-prolyl cis-trans isomerase) ήταν κοινές και υπερεκφράζονταν σε όλες τις ομάδες ανευρυσμάτων (εικόνα 3-8B).

Ιεραρχική ομαδοποιημένη ανάλυση κατέδειξε διαφορετικά πρωτεϊνικά πρότυπα έκφρασης μεταξύ μικρών, μεσαίων και μεγάλων ανευρυσμάτων. Σύγκριση μεταξύ μικρών ανευρυσμάτων και φυσιολογικής διαμέτρου αορτής, μεσαίων ανευρυσμάτων και φυσιολογικής διαμέτρου αορτής και μεγάλων ανευρυσμάτων και φυσιολογικής διαμέτρου αορτής ταυτοποίησε 13, 17 και 12 πρωτεΐνες αντίστοιχα οι οποίες είχαν διαφορετική έκφραση μεταξύ των ομάδων (εικόνα 3-8A).

Ανάλυση των υπερ- και υπο-εκφραζόμενων πρωτεϊνών στις ομάδες των ανευρυσμάτων έδειξε ότι υπήρχαν 2 μοναδικές πρωτεΐνες που είχαν διαφορετική έκφραση στα μικρά ανευρύσματα (filamin-A και G-protein coupled receptor 98), 7 μοναδικές πρωτεΐνες στα μεσαία ανευρύσματα (cysteine rich protein 1, cysteine και glycine rich protein 2, transgelin-2, peroxiredoxin-1, tropomyosin beta chain, protein disulfide-isomerase και lumican) και 5 μοναδικές πρωτεΐνες στα μεγάλα ανευρύσματα (vimentin, polymerase 1 και transcript release factor, peroxiredoxin-2, prolargin και alpha-2-HS-glycoprotein) (πίνακας 3-2). Τα αποτελέσματα της πρωτεομικής ανάλυσης επιβεβαιώθηκαν με ανάλυση Western blot (εικόνα 3-8, C έως E).

Εικόνα 3-8. A: Κύρια πρωτεομική ανάλυση. B: Ιεραρχική ομαδοποιημένη ανάλυση των πρωτεϊνών με διαφορετική έκφραση. C: Coomassie gel μετά από ηλεκτροφόρηση ολικών πρωτεϊνών. D: Western blot της πρωτεΐνης FHL1. E: Αλλαγές στα επίπεδα έκφρασης της FHL1 σε σύγκριση με την ομάδα φυσιολογικής διαμέτρου αορτής. A: Η κύρια πρωτεομική ανάλυση δεν έδειξε αλλαγές στα πρότυπα έκφρασης πρωτεϊνών μεταξύ ανευρυσμάτων με τρίπτυχη αορτική βαλβίδα σε σχέση με ανευρύσματα με δίπτυχη αορτική βαλβίδα ή μεταξύ ανδρών με ανευρύσματα σε σχέση με ανευρύσματα γυναικών. B: Διαφορετική έκφραση πρωτεϊνών σε σύγκριση με την ομάδα φυσιολογικής διαμέτρου αορτής η οποία καθορίστηκε σε επίπεδο σημαντικότητας $P < 0.01$ για κάθε ομάδα. Οι πρωτεΐνες με τη διαφορετική έκφραση αναφέρονται με συντομογραφίες σύμφωνα με τη βάση SWISS-PROT. Η λογαριθμική αλλαγή στην έκφραση των πρωτεϊνών φαίνεται μέσω της διαβάθμισης των χρωμάτων (με κλίμακα από -1 έως 1) με το κόκκινο χρώμα να υποδηλώνει υπερέκφραση και το πράσινο υποέκφραση. Οι κολώνες υποδηλώνουν συγκρίσεις της λογαριθμικής αλλαγής και οι γραμμές υποδηλώνουν τις πρωτεΐνες. Τα δένδρογράμματα βρίσκονται στην αριστερή πλευρά, οι διάφορες συγκρινόμενες ομάδες βρίσκονται στην πάνω πλευρά και τα ονόματα των πρωτεϊνών βρίσκονται στη δεξιά πλευρά. C: Αντιπροσωπευτικό 10% Novex Tris-Glycine gel το οποίο έχει υποστεί χρώση με Coomassie blue (MW=molecular weight δείκτης, 1=ομάδα χωρίς ανευρύσματα, 2=μικρά ανευρύσματα, 3=μεσαία ανευρύσματα και 4=μεγάλα ανευρύσματα). Δείγματα πρωτεϊνών (25μg) από ολικού πάχους τοίχωμα ανιούσας θωρακικής αορτής διαχωρίστηκαν σε 10% Novex Tris-Glycine gel. D: Η αξιολόγηση της πρωτεομικής ανάλυσης έγινε με Western blot ανάλυση. Απεικονίζεται μία τέτοια ανάλυση χρησιμοποιώντας μονοκλωνικό αντίσωμα από ποντικό έναντι της πρωτεΐνης four and a half LIM domain (FHL1) (διάλυση 1:2000, Abcam, Inc, Cambridge, MA). E: Ο πίνακας παρουσιάζει πόσες φορές είναι διαφορετική η έκφραση της FHL1 σε σύγκριση με την ομάδα φυσιολογικής διαμέτρου αορτής.

A**B**

C**D****E**

Western blot (WB) and proteomic results for FHL1, fold changes as compared to control

Group	WB	Proteomics
Small ATAAs	8.454±0.79	3.959
Medium ATAAs	1.658±0.04	4.079
Large ATAAs	0.20±0.03	1.0

Πίνακας 3-2. Α: Ανάλυση των υπερ- και υπο-εκφραζόμενων πρωτεϊνών στις ομάδες των ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής.

<i>Protein expression by ATAA size</i>				
<i>Protein Name</i>	<i>p-value</i>	<i>control mean</i>	<i>group mean</i>	<i>fold change</i>
ATAA 4.0-4.9 cm				
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	0.001	0.807	2.446	2.446
G-protein coupled receptor 98 *	0.001	0.657	1.753	1.753
Plastin-3	0.001	1.553	4.527	4.527
Transgelin	0.004	1.547	4.417	4.417
Four and a half LIM domain 1	0.004	1.627	5.113	5.113
Fibronectin	0.009	0.680	2.163	2.163
Prelamin-A/C	0.013	1.017	1.752	1.752
Filamin-A *	0.023	0.467	1.626	1.626
Cysteine-rich protein 2	0.025	7.833	15.130	15.130
Cysteine and glycine-rich protein 1	0.026	1.852	3.795	3.795
Calponin-1	0.041	2.658	7.530	7.530
Alpha-enolase	0.030	0.873	1.610	1.610
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A	0.044	1.000	1.685	1.685
ATAA 5.0-5.5 cm				
Plastin-3	0.001	1.553	4.240	2.730
Calponin-1	0.001	2.658	7.471	2.811
Cysteine and glycine-rich protein 1	0.003	1.852	4.664	2.216
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	0.001	0.807	1.788	3.454
Four and a half LIM domain 1	0.002	1.627	5.619	2.519
Transgelin	0.003	1.547	4.731	3.059
Alpha-enolase	0.005	0.873	1.604	-2.643
Cysteine-rich protein 2	0.006	7.833	20.816	-1.514
Transgelin-2	0.009	4.030	12.031	1.836
Peroxiredoxin-1 *	0.006	1.020	1.586	2.657
Cysteine-rich protein 1 *	0.019	0.710	1.434	1.555
Cysteine and glycine-rich protein 2 *	0.024	6.757	13.735	2.985
Tropomyosin beta chain *	0.029	0.940	1.463	2.019
Protein S100-A4	0.048	0.847	1.166	2.033
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A	0.050	1.000	1.536	1.556
Protein disulfide-isomerase *	0.004	1.242	0.820	1.377
Lumican *	0.004	0.730	0.276	1.536
ATAA >5.5				
Plastin-3	0.009	1.553	5.285	3.402
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A	0.051	0.457	0.020	1.795
Protein S100-A4	0.013	0.847	1.275	1.506
Prelamin-A/C	0.024	1.017	1.428	1.404
Calponin-1	0.032	2.658	5.670	2.133
Fibronectin	0.041	0.680	1.913	2.813
Alpha-enolase	0.032	0.873	1.388	1.589
Vimentin *	0.045	1.950	0.940	-2.074
Prolargin *	0.041	0.792	0.395	-2.004
Peroxiredoxin-2 *	0.039	0.822	0.450	-1.826
Alpha-2-HS-glycoprotein *	0.051	0.457	0.020	-22.833
Polymerase 1 and transcript release factor *	0.015	1.508	0.673	-2.243

* indicates unique protein expression in ATAA size group; p-values were obtained unpaired student T test. Control mean = average normalized iTRAQ ratio for control group. Group mean = average normalized iTRAQ ratio for aneurism group. Fold change = increase or decrease in protein expression level as compared to control (+, up-regulated vs. control; -, down regulated vs. control).

3.8 Λειτουργική ανάλυση εμπλουτισμού

Η λειτουργική ανάλυση εμπλουτισμού κατέδειξε 11 λειτουργικές ομάδες στα μικρά ανευρύσματα, 7 στα μεσαία ανευρύσματα και 6 στα μεγάλα ανευρύσματα ($P < 0.05$, Score εμπλουτισμού > 2.0), οι οποίες είχαν αυξημένη έκφραση (πίνακας 3-3). Στα μικρά και μεσαία ανευρύσματα οι λειτουργικές ομάδες για προσκόλληση στον κυτταροσκελετό, στην ακτίνη, για την ανάπτυξη μυϊκών οργάνων, του μοριακού μονοπατιού της γλυκόλυσης και της γλυκόλυσης/γλυκονεογέννεσης είχαν σημαντικά αυξημένη έκφραση (πίνακας 3-3). Στα μεγάλα ανευρύσματα οι λειτουργικές ομάδες για οξεία φλεγμονώδη αντίδραση, δομική μοριακή δραστηριότητα, εξωκυττάρια θεμέλια ουσία και αντίδραση οξείας φάσης είχαν σημαντικά αυξημένη έκφραση. Όλες οι λειτουργικές ομάδες ήταν μοναδικές για το μέγεθος του ανευρύσματος και δεν υπήρχε καμία κοινή λειτουργική ομάδα μεταξύ των μικρών και μεσαίων ανευρυσμάτων σε σύγκριση με τα μεγάλα ανευρύσματα. Δεν υπήρχε καμία λειτουργική ομάδα που να εμφάνισε μειωμένη έκφραση σε κάποια από τις ομάδες των ανευρυσμάτων. (πίνακας 3-3).

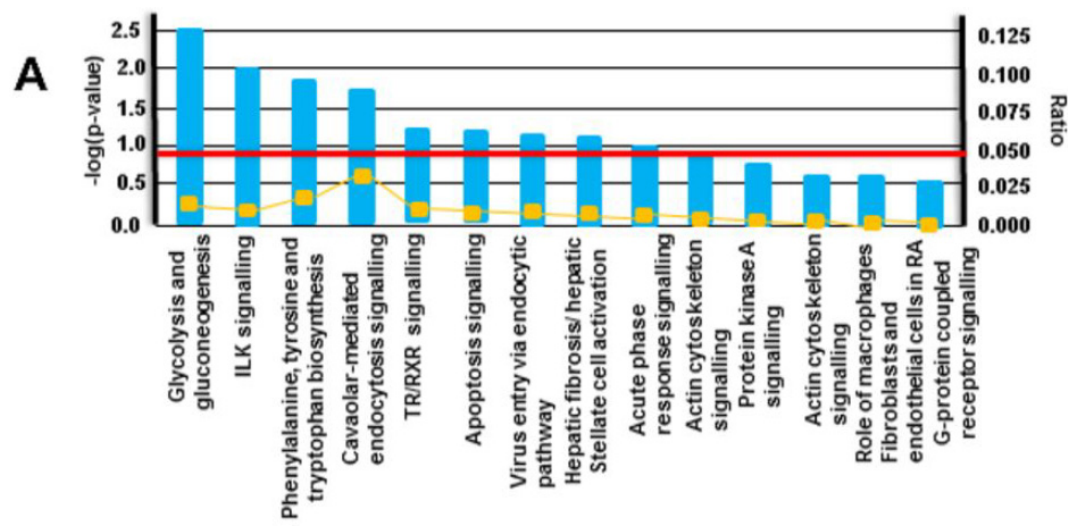
Πίνακας 3-3. Αναφέρονται οι λειτουργικές ομάδες πρωτεϊνών οι οποίες εμφάνισαν αυξημένη έκφραση στα μικρά, μεσαία και μεγάλα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής.

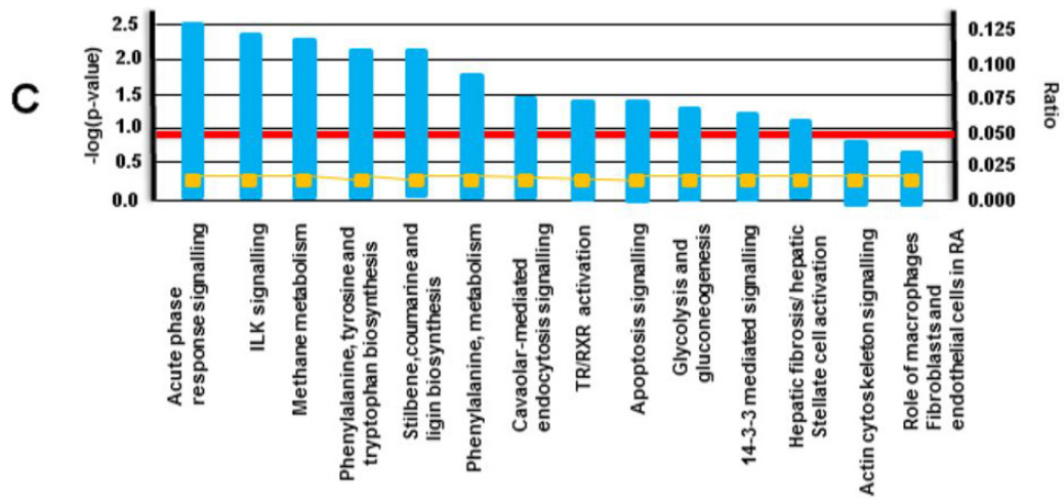
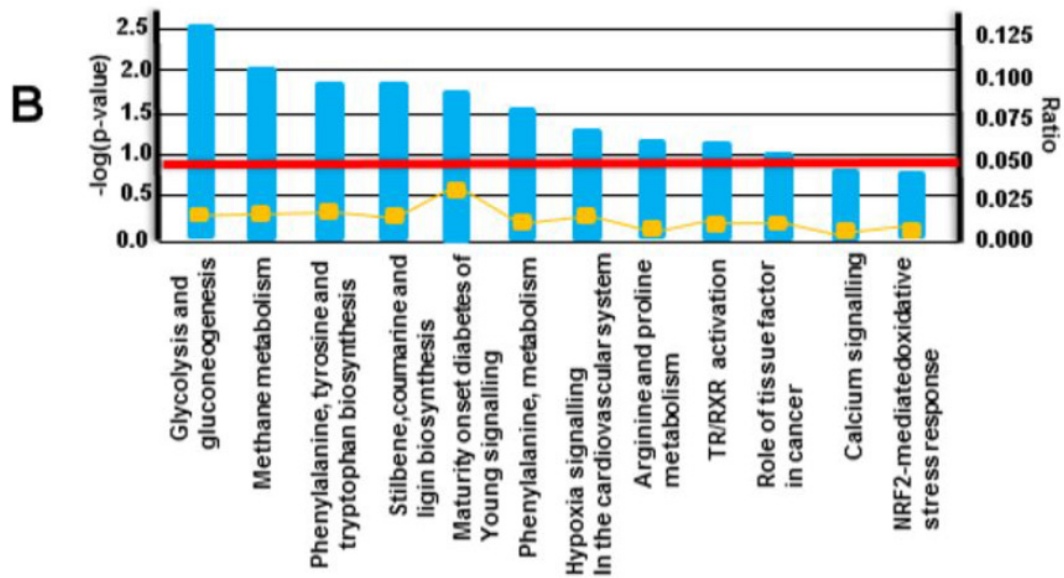
<i>Functional Annotation Clusters by ATAA size</i>		
Functional Annotation Clusters for ATAA 4.0-4.9 cm		
Annotation Cluster	count	P-value
cytoskeletal protein binding	5	0.001
actin binding	4	0.003
muscle organ development	3	0.012
actin cytoskeleton organization	3	0.014
actin filament-based process	3	0.016
Glycolysis Pathway	2	0.023
cytosol	4	0.029
glycolysis	2	0.038
glucose catabolic process	2	0.046
Glycolysis / Gluconeogenesis	2	0.046
cytoskeleton organization	3	0.047
Functional Annotation Clusters for ATAA 5.0-5.5 cm		
Annotation Cluster	count	P-value
muscle organ development	4	0.001
actin binding	4	0.006
cytoskeletal protein binding	4	0.019
regulation of cell size	3	0.021
Glycolysis Pathway	2	0.023
Glycolysis / Gluconeogenesis	2	0.023
regulation of cellular component size	3	0.035
Functional Annotation Clusters for ATAA > 5.5 cm		
Annotation Cluster	count	P-value
acute inflammatory response	3	0.003
structural molecule activity	4	0.014
extracellular matrix	3	0.018
inflammatory response	3	0.027
acute-phase response	2	0.032
cytosol	4	0.042
Count= number of proteins in each functional annotation cluster. P-value was determined by Fisher Exact Test . A p-value <= 0.01 indicates the annotation cluster is specifically associated (enriched) in the ATAA size group pathway rather than by random chance		

3.9 Ανάλυση μοριακών μονοπατιών

Η ανάλυση μοριακών μονοπατιών όλων των ομάδων ανευρυσμάτων έδειξε αυξημένη έκφραση 11 μονοπατιών. Στα μικρά ανευρύσματα 4 μονοπάτια είχαν αυξημένη έκφραση (εικόνα 3-9A). Στα μεσαία ανευρύσματα 6 μονοπάτια ήταν σημαντικά αυξημένα (εικόνα 3-9B). Στα μεγάλα ανευρύσματα 6 μονοπάτια ήταν σημαντικά αυξημένα (εικόνα 3-9C). Το μοριακό μονοπάτι της βιοσύνθεσης φαινυλαλανίνης, τυροσίνης και τρυπτοφάνης ήταν αυξημένο σε όλα τα ανευρύσματα ανεξαρτήτως μεγέθους. Υπήρχαν 2 μονοπάτια κοινά στα μικρά και μεσαία ανευρύσματα και 3 μονοπάτια κοινά στα μεσαία και μεγάλα ανευρύσματα. Μόνο 1 μονοπάτι ήταν κοινό μεταξύ μικρών και μεγάλων ανευρυσμάτων (ILK signaling).

Εικόνα 3-9. Ανάλυση μοριακών μονοπατιών όλων των ομάδων ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής.





3.10 Ανάλυση real time qRT-PCR

Για την ταυτοποίηση των ανευρυσμάτων στο περιφερικό αίμα επιλέχθηκαν ειδικοί RNA βιοδείκτες όπως αυτοί καθορίστηκαν από την πρωτεομική ανάλυση. Η ανάλυση του περιφερικού αίματος με την χρήση qRT-PCR, έδειξε ότι τα μεταγραφικά προϊόντα για alpha-enolase (ENO1) και peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A (PPIA), ήταν σημαντικά αυξημένα σε όλες τις ομάδες ανευρυσμάτων σε σύγκριση με την ομάδα φυσιολογικής διαμέτρου αορτής. Τα μεταγραφικά προϊόντα των four and a half LIM protein 1 (FHL1), cysteine-glycine rich protein 1 (CSR1) και cysteine rich protein 2 (CRP2) ήταν σημαντικά αυξημένα στα μικρά και μεσαία ανευρύσματα σε σύγκριση με φυσιολογικής διαμέτρου αορτές.

Η ανάλυση qRT-PCR στο περιφερικό αίμα έδειξε αυξημένα επίπεδα για τα μεταγραφικά προϊόντα του κολλαγόνου I- α 1, III- α 1, V- α 2, XI- α 1 και FHL1 στα ανευρύσματα σε σύγκριση με την ομάδα φυσιολογικής διαμέτρου αορτής (πίνακας 3-4). Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής δείχνουν ότι τα μεταγραφικά προϊόντα του κολλαγόνου III- α 1, του κολλαγόνου XI- α 1 και του FHL1, είχαν μειωμένη έκφραση σε όλα τα δείγματα της ομάδας με φυσιολογική διάμετρο αορτής, ενώ το κολλαγόνο τύπου I- α 1 και του κολλαγόνου V- α 2, ήταν αυξημένα σε 3 μόνο δείγματα της ομάδας με φυσιολογική διάμετρο αορτής.

Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα χρησιμοποιήθηκαν τα μεταγραφικά προϊόντα του κολλαγόνου I- α 1, III- α 1, V- α 2, XI- α 1 και FHL1 ως βιοδείκτες ανάλυσης των ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής σε δείγματα περιφερικού αίματος. Χρησιμοποιώντας αυτούς τους 5 βιοδείκτες με ανάλυση qRT-PCR στο περιφερικό αίμα παρατηρήθηκε ότι 3 από αυτούς ήταν σημαντικά αυξημένοι σε 15 από τα 19 δείγματα (79%) ανευρυσμάτων διαμέτρου 4.0 έως 4.9cm και σε 19 από 21 δείγματα (90.5%) ανευρυσμάτων διαμέτρου πάνω από 5.0cm (πίνακας 3-4).

Σύγκριση μεταξύ ανευρυσμάτων από δείγματα με τρίπτυχη αορτική βαλβίδα και φυσιολογικής διαμέτρου αορτές και μεταξύ ανευρυσμάτων από δείγματα με δίπτυχη αορτική βαλβίδα με φυσιολογικής διαμέτρου αορτές έδειξε ότι οι παραπάνω 5 βιοδείκτες ήταν σημαντικά αυξημένοι σε 21 από 23 δείγματα (91.3%) ανευρυσμάτων με τρίπτυχη αορτική βαλβίδα και σε 12 από 17 δείγματα (70.6%) ανευρυσμάτων με δίπτυχη αορτική βαλβίδα (πίνακας 3-4). Πέντε δείγματα ανευρυσμάτων αποκλείστηκαν

από την ανάλυση λόγω μη επαρκούς όγκου δείγματος και αυτά προέρχονταν από 3 γυναίκες και 2 άντρες (δίπτυχες αορτικές βαλβίδες με ανευρύσματα διαμέτρου 4.2, 5.0 και 5.3cm και τρίπτυχες αορτικές βαλβίδες με ανευρύσματα διαμέτρου 4.5 και 7.0cm).

Η ανάλυση των βιοδεικτών έδειξε ότι η ταυτοποίηση των ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής στο περιφερικό αίμα ήταν δυνατή έχοντας ως αποτέλεσμα την υπερέκφραση τριών από τους 5 βιοδείκτες σε σύγκριση με τις τιμές της ομάδας με φυσιολογικής διαμέτρου αορτές (πίνακας 3-4). Η ευαισθησία, η ειδικότητα, η πιθανότητα και τα διαστήματα εμπιστοσύνης για την ταυτοποίηση των ανευρυσμάτων ανιούσας θωρακικής αορτής με την χρήση ενός έως τριών βιοδεικτών με ανάλυση qRT-PCR στο περιφερικό αίμα, είχαν σημαντικά υψηλότερες τιμές σε σύγκριση με την ομάδα με φυσιολογικής διαμέτρου αορτές και κυμαινόμενη ευαισθησία από 0.53 έως 0.97 (πίνακας 3-5).

Πίνακας 3-4. Αποτελέσματα ανάλυσης qRT-PCR στο περιφερικό αίμα για τα μεταγραφικά προϊόντα του κολλαγόνου I-α1, ΙΙΙ-α1, V-α2, ΧΙ-α1 και FHL1 στα ανευρύσματα ανιούσας θωρακικής αορτής σε σύγκριση με την ομάδα φυσιολογικής διαμέτρου αορτής.

Whole blood ATAA transcript biomarker fold changes in control and ATAA					
		Col α1(I)	Col α1(III)	Col α2(V)	Col α1(XI) FHL1
Control					
Control 2		1.073	0.458	1.852	0.554 0.993
Control 3		0.087	0.723	1.355	0.789 1.007
Control 4		0.072	0.941	1.590	0.668 0.456
Control 5		1.638	0.754	0.004	0.524 0.657
Control 6		0.660	0.718	1.180	0.919 0.707
ATAA 4.0-4.9 cm					
4 TAV		2.888	12.123	1.021	1.102 2.000
4.2 BAV		2407.522	514.371	484.382	513.184 150.818
4.2 TAV		2.591	63.558	46.527	59.714 34.456
4.3 BAV		0.248	0.219	0.228	0.270 2.390
4.3 TAV		6.932	29.041	29.041	39.579 12.295
4.5 BAV		0.993	2.219	2.908	4.993 4.230
4.5 BAV		1.165	0.432	0.742	1.050 1.320
4.5 BAV		3.117	1.569	1.972	2.770 ND
4.5 BAV		7.727	5.454	6.821	8.398 20.600
4.6 BAV		0.291	1.602	2.329	2.445 9.590
4.6 BAV		2.235	3.227	4.724	7.160 ND
4.6 TAV		3.555	10.928	18.896	19.562 ND
4.8 BAV		107.635	122.786	104.934	179.354 66.949
4.8 TAV		86.422	32.000	36.002	46.635 19.248
4.8 TAV		7.799	6.981	8.938	7.345 2.615
4.8 TAV		0.642	0.200	0.403	0.010 4.330
4.8 TAV		12.042	1.753	1.042	1.516 ND
4.9 BAV		0.877	0.664	0.940	1.558 1.520
4.9 Mechanical		631.804	6.306	6.853	4.605 11.931
ATAA 5.0-5.5 cm					
5 BAV		1.741	1.613	2.428	4.056 ND
5 BAV		0.339	0.555	0.847	7.160 1.290
5 TAV		21.907	9.296	7.029	14.026 2.949
5 TAV		289.349	2.313	3.379	2.905 1.705
5.2 BAV		0.973	6.916	8.634	18.636 22.600
5.2 TAV		280.139	53.076	7.156	2.378 1.420
5.2 TAV		3.681	1.117	1.602	1.866 2.670
5.3 BAV		6.964	2.694	1.945	2.482 1.320
5.3 TAV		0.518	1.922	1.537	2.362 2.110
5.3 TAV		35.753	2.848	1.558	2.114 4.030
5.4 BAV		3.555	0.688	1.133	1.853 2.360
5.4 TAV		21.456	22.471	19.115	25.457 15.067
5.4 TAV		12.210	2.266	3.607	4.959 ND
ATAA > 5.5 cm					
5.6 TAV		4.834	27.793	21.958	37.100 14.387
5.7 TAV		0.304	4.377	5.040	6.869 11.210
5.7 TAV		0.633	1.028	1.660	1.474 6.350
5.7 BAV		50.213	43.111	40.035	103.250 ND
5.8 TAV		531.282	73.517	61.393	75.758 21.556
6 TAV		246.994	0.745	11.288	1.613 4.459
6.1 BAV		78.976	32.522	19.562	37.792 26.816
7 TAV		22.785	95.450	87.629	154.343 24.818
7.7 TAV		39.579	62.973	50.563	119.704 19.698

Red = qRT-PCR fold change up-regulation of a transcript biomarker as compared to control. Green = qRT-PCR fold change down-regulation of a transcript biomarker as compared to control. ND = not determined

Πίνακας 3-5. Αναφέρονται η ευαισθησία, η ειδικότητα, η πιθανότητα και τα διαστήματα εμπιστοσύνης για την ταυτοποίηση των ανευρυσμάτων ανιούσας θωρακικής αορτής με την χρήση ενός έως τριών βιοδεικτών με ανάλυση qRT-PCR στο περιφερικό αίμα.

Sensitivity, specificity, probability and confidence intervals for ATAA identification using 1 to 3 transcript biomarkers being up-regulated as compared to control by qRT-PCR in whole blood.							
1 up-regulated transcript biomarker as compared to control							
FHL1	30	88.2	<0.0001	0.88	0.73 - 0.97	1.00	0.42 - 1.00
Col α1(X)	36	87.8	<0.0001	0.88	0.74 - 0.96	1.00	0.42 - 1.00
Col α2(V)	33	80.5	0.03	0.81	0.65 - 0.91	0.67	0.22 - 0.96
Col α1(III)	31	75.6	<0.001	0.76	0.60 - 0.88	1.00	0.42 - 1.00
Col α1(I)	29	70.7	0.02	0.71	0.55 - 0.84	0.83	0.36 - 1.00
ATAA patients identified for any 1 transcript biomarker being up-regulated as compared to control							
	33	97.1	<0.01	0.97	0.85 - 1.00	0.50	0.12 - 0.88
2 up-regulated transcript biomarkers as compared to control							
Col α2(V) + Col α1(X)	32	78.0	<0.001	0.78	0.63 - 0.89	1.00	0.42 - 1.00
Col α1(X) + FHL1	26	76.5	<0.001	0.77	0.59 - 0.89	1.00	0.42 - 1.00
Col α2(V) + FHL1	25	73.5	<0.01	0.74	0.56 - 0.87	1.00	0.42 - 1.00
Col α1(III) + Col α1(X)	30	73.2	<0.01	0.73	0.57 - 0.86	1.00	0.42 - 1.00
Col α1(III) + Col α2(V)	29	70.7	<0.01	0.71	0.55 - 0.84	1.00	0.42 - 1.00
Col α1(I) + Col α1(X)	28	68.3	<0.01	0.68	0.52 - 0.82	1.00	0.42 - 1.00
Col α1(III) + FHL1	23	67.6	<0.01	0.68	0.50 - 0.83	1.00	0.42 - 1.00
Col α1(I) + Col α1(III)	26	63.4	<0.01	0.64	0.47 - 0.78	1.00	0.42 - 1.00
Col α1(I) + Col α2(V)	26	63.4	<0.01	0.64	0.47 - 0.78	1.00	0.42 - 1.00
Col α1(I) + FHL1	21	61.8	<0.01	0.62	0.44 - 0.78	1.00	0.42 - 1.00
ATAA patients identified for any 2 transcript biomarkers being up-regulated as compared to control							
	30	88.2	<0.0001	0.88	0.73 - 0.97	1.00	0.42 - 1.00
3 up-regulated transcript biomarkers as compared to control							
Col α1(III) + Col α2(V) + Col α1(X)	29	70.7	<0.01	0.71	0.55 - 0.84	1.00	0.42 - 1.00
Col α2(V) + Col α1(X) + FHL1	24	70.6	<0.01	0.71	0.53 - 0.85	1.00	0.42 - 1.00
Col α1(III) + Col α2(V) + FHL1	22	64.7	<0.01	0.65	0.47 - 0.80	1.00	0.42 - 1.00
Col α1(III) + Col α1(X) + FHL1	22	64.7	<0.01	0.65	0.47 - 0.80	1.00	0.42 - 1.00
Col α1(I) + Col α2(V) + Col α1(X)	26	63.4	<0.01	0.63	0.47 - 0.78	1.00	0.42 - 1.00
Col α1(I) + Col α1(III) + Col α1(X)	25	61.0	<0.01	0.61	0.45 - 0.76	1.00	0.42 - 1.00
Col α1(I) + Col α1(X) + FHL1	20	58.8	0.02	0.59	0.41 - 0.75	1.00	0.42 - 1.00
Col α1(I) + Col α1(III) + Col α2(V)	24	58.5	<0.01	0.59	0.42 - 0.74	1.00	0.42 - 1.00
Col α1(I) + Col α2(V) + FHL1	19	55.9	0.02	0.56	0.38 - 0.73	1.00	0.42 - 1.00
Col α1(I) + Col α1(III) + FHL1	18	52.9	0.02	0.53	0.35 - 0.70	1.00	0.42 - 1.00
ATAA patients correctly identified for any 3 transcript biomarkers being up-regulated as compared to control							
	27	79.4	<0.001	0.79	0.62 - 0.91	1.00	0.42 - 1.00

P values were given by Fisher's exact tests comparing the proportions among variables of each screening test and ATAA prevalence. 95% CI= 95% confidence interval.

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1 Συζήτηση πρώτου μέρους της μελέτης

Με βάση το γεγονός ότι η σύνθεση των τύπων κολλαγόνου στο αορτικό τοίχωμα είναι σημαντική για την ακεραιότητα του τοιχώματος αλλά και την αντοχή του στις δυνάμεις της διατμητικής τάσης,^{110,111,115,146} αναλύθηκε διεξοδικά στο πρώτο μέρος της μελέτης η αλλαγή στη σύνθεση των τύπων κολλαγόνου που έχουν την ικανότητα να σχηματίζουν ινίδια κατά το σχηματισμό ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής. Τόσο η μελέτη στο οπτικό μικροσκόπιο, αλλά και με μεγαλύτερη ακρίβεια στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο έδειξε ξεκάθαρα ότι τα σύνθετα ετεροτυπικά ινίδια κολλαγόνου ήταν κατακερματισμένα και είχαν χάσει την ομοιόμορφη διάταξή τους και τον προσανατολισμό τους στα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής όταν συγκρίθηκαν με μη ανευρυσματικές ανιούσες θωρακικές αορτές.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν για πρώτη φορά στη διεθνή βιβλιογραφία ότι τα επίπεδα mRNA καθώς και τα πρωτεϊνικά επίπεδα των κολλαγόνων τύπου XI-α1 και V ήταν σημαντικά αυξημένα ιδιαίτερα στις περιοχές κυστικής εκφύλισης του μέσου χιτώνα της αορτής σε ανθρώπινα δείγματα από ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής από ασθενείς με τρίπτυχες αορτικές βαλβίδες σε σύγκριση με δείγματα από φυσιολογικής διαμέτρου ανιούσας αορτής. Προχωρώντας περισσότερο στη συσχέτιση αυτή βρέθηκε γραμμική συσχέτιση αυτών των αλλαγών με το μέγεθος/διάμετρο του ανευρύσματος. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν ακόμα ότι τα κολλαγόνα τύπου I και III είχαν παρόμοια επίπεδα έκφρασης mRNA στα ανευρύσματα και στις φυσιολογικής διαμέτρου αορτές, παρόλα αυτά σημειώθηκε σημαντική μείωση στα πρωτεϊνικά επίπεδα αυτών των πρωτεϊνών στα ανευρύσματα και αυτή η μείωση παρουσίασε γραμμική συσχέτιση με το μέγεθος/διάμετρο του ανευρύσματος.

Τα αυξημένα επίπεδα πρωτεϊνών του κολλαγόνου τύπου XI-α1 και του κολλαγόνου τύπου V ίσως αντιπροσωπεύουν έναν ρυθμιστικό μηχανισμό, ο οποίος καθορίζει το πάχος και τη διάμετρο των ετεροτυπικών ινιδίων που σχηματίζονται κατά πλειοψηφία από τα κολλαγόνα τύπου I και III. Προηγούμενες δημοσιευμένες μελέτες έχουν δείξει ότι οι πρωτεΐνες των κολλαγόνων τύπου XI-α1 και V περιλαμβάνουν στο

μόριό τους ένα ογκώδες σφαιρικό αμινοτελικό τμήμα το οποίο έχει παρόμοια δομή και μέγεθος.¹¹⁰ Αυτό το ογκώδες σφαιρικό τμήμα έχει προταθεί ότι έχει την ικανότητα να μειώνει την αντοχή του ιστού στη εφαρμογή διατμητικής τάσης μέσω στερικής παρεμπόδισης η οποία παρουσιάζεται μεταξύ των ογκωδών σφαιρικών αμινοτελικών τμημάτων και των κύριων κολλαγόνων που σχηματίζουν ινίδια (δηλ. κολλαγόνο τύπου I και III), παρεμποδίζοντας τη δυνατότητα να συμπλησιάσουν και να σχηματίσουν ετεροτυπικά ινίδια μεγαλύτερου πάχους, τα οποία προφανώς θα έχουν και μεγαλύτερη αντοχή στις δυνάμεις διατμητικής τάσης.¹¹⁵

Η υπερέκφραση των κολλαγόνων τύπου XI-α1 και V θα επέτρεπε επίσης το σχηματισμό ετεροτριμερών ώριμων πρωτεϊνών κολλαγόνου XI/V.¹¹⁸ Αυτά τα ετεροτριμερή κολλαγόνα θα μπορούσαν να εμποδίζουν την απόθεση κολλαγόνων τύπου I και III στη θεμέλια εξωκυττάρια ουσία μέσω του μηχανισμού στερικής παρεμπόδισης που αναφέρθηκε παραπάνω. Αυτός ο πιθανός μηχανισμός ενισχύεται από προηγούμενες δημοσιευμένες μελέτες βασικής έρευνας που δείχνουν ότι υπάρχει ένας δοσοεξαρτώμενος συναγωνιστικός μηχανισμός για το σχηματισμό ινιδίων κολλαγόνου μεταξύ του κολλαγόνου τύπου I και του κολλαγόνου τύπου V όπως και μεταξύ του κολλαγόνου τύπου I και του κολλαγόνου τύπου XI-α1.^{113,115} Συνεπώς η υπερέκφραση των κολλαγόνων τύπου XI-α1 και V θα μπορούσε να οδηγήσει σε λεπτότερου πάχους ετεροτυπικά ινίδια κολλαγόνου με αποτέλεσμα τη μείωση της αντοχής στις δυνάμεις διατμητικής τάσης του αορτικού τοιχώματος κάνοντάς το έτσι πιο επιρρεπές στη διάταση.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι η αύξηση σε πρωτεϊνικό επίπεδο των κολλαγόνων τύπου XI-α1 και V στο ανευρυσματικό αορτικό τοίχωμα συνδυάζεται με αντίστοιχα αυξημένα επίπεδα mRNA αυτών των πρωτεϊνών, ενώ από την άλλη πλευρά δεν σημειώθηκαν αλλαγές στα επίπεδα έκφρασης του mRNA των κολλαγόνων τύπου I και III. Αυτή η διαφορετική έκφραση των διαφόρων τύπων κολλαγόνου έχει επίσης επισημανθεί στα λεία μυϊκά κύτταρα του μέσου χιτώνα της ανευρυσματικής ανιούσας αορτής,^{147,148} όπως και σε αορτικά λεία μυϊκά κύτταρα σε καλλιέργεια,¹¹⁸ ενώ έχει προταθεί ως ένας πιθανός μηχανισμός που ρυθμίζει την αναδιαμόρφωση της θεμέλιας εξωκυττάριας ουσίας. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι το αμινοτελικό τμήμα του κολλαγόνου τύπου XI-α1 περιέχει μία καλά χαρακτηρισμένη θετικά φορτισμένη περιοχή που έχει την ικανότητα να συνδέει την

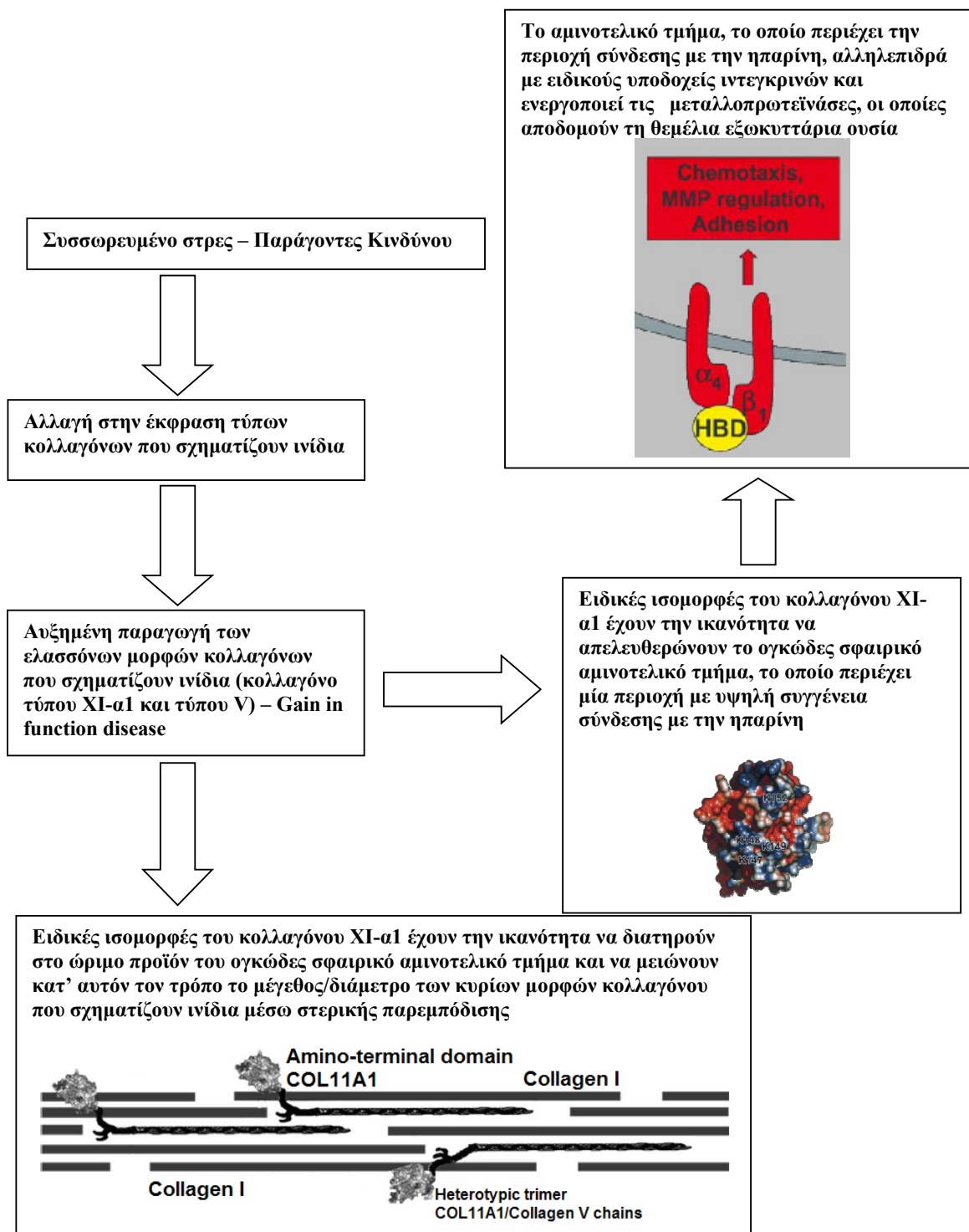
αρνητικά φορτισμένη ηπαρίνη.^{119,126} Αυτή η περιοχή που συνδέει με μεγάλη συγγένεια την ηπαρίνη έχει βρεθεί ότι αλληλεπιδρά με ειδικούς υποδοχείς ιντεγκρινών οι οποίοι προωθούν τη ρύθμιση της έκφρασης και καθορίζουν την ενεργοποίηση των μεταλλοπρωτεϊνών.¹²¹ Η αυξημένη έκφραση των επιπέδων mRNA των κολλαγόνων τύπου XI-α1 και V και κατ' επέκταση των πρωτεϊνών που κωδικοποιούν θα μπορούσε να θεωρηθεί ότι με τη δράση τους αυξάνουν έμμεσα την σύνθεση και την ενεργοποίηση των μεταλλοπρωτεϊνών συντελώντας έτσι στη σταδιακή αποδόμηση της θεμέλιας εξωκυττάριας ουσίας. Αυτός ο καταρράκτης αλληλεπιδράσεων θα μπορούσε περαιτέρω να μειώσει τα πρωτεϊνικά επίπεδα των κολλαγόνων τύπου I και III, τα οποία δεν θα μπορούσαν να αναπληρωθούν λόγω αφενός μεν των σταθερών επιπέδων του mRNA αυτών των κολλαγόνων και αφετέρου λόγω των αυξημένων επιπέδων πρωτεϊνών κολλαγόνου τύπου XI-α1 και V που συμβαίνει λόγω των αυξημένων επιπέδων mRNA αυτών των κολλαγόνων. Όλες αυτές οι διεργασίες θα μπορούσαν τελικά να οδηγήσουν στο αδυνάτισμα του αορτικού τοιχώματος (μειωμένη αντοχή στις δυνάμεις διατμητικής τάσης) καθιστώντας το πιο επιρρεπές στη διάταση και στη ρήξη.

Επιβεβαίωση του παραπάνω μηχανισμού έρχεται από τον Ikonomidis και συνεργάτες,¹⁴⁹ οι οποίοι έχουν δείξει ότι τα επίπεδα των μεταλλοπρωτεϊνών και η δραστηριότητά τους είναι αυξημένη στα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής οδηγώντας σε σταδιακή αποδόμηση της θεμέλιας εξωκυττάριας ουσίας συμπεριλαμβανομένου του κολλαγόνου. Αυτοί οι ερευνητές έδειξαν ότι σε ασθενείς με τρίπτυχες αορτικές βαλβίδες υπήρχε σημαντική αύξηση της μεταλλοπρωτεϊνικής-13 στα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής διαμέτρου 4.0-5.9cm και αύξηση της μεταλλοπρωτεϊνικής-7 στα μεγαλύτερα ανευρύσματα. Οι μεταλλοπρωτεϊνικές 13 και 7 εκφράζονται και οι δύο στα κύτταρα του αορτικού τοιχώματος και έχει βρεθεί ότι και οι δύο συμμετέχουν σε μεγάλο βαθμό στην αναδιαμόρφωση της θεμέλιας εξωκυττάριας ουσίας μέσω της σταδιακής αποδόμησης του κολλαγόνου και των λοιπών στοιχείων της θεμέλιας εξωκυττάριας ουσίας.¹⁵⁰ Τώρα, κατά πόσον η αποδόμηση από τη δράση των μεταλλοπρωτεϊνών οδηγεί στην αυξημένη παραγωγή κολλαγόνων τύπου XI-α1 και V σε επίπεδο mRNA και επίπεδο πρωτεϊνών ή δρά σε συνεργασία προσθετικά με τα κολλαγόνα αυτά είναι πέραν του σκοπού της παρούσας μελέτης και θα πρέπει να διαλευκανθεί από μελλοντικές μελέτες.

Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης είναι σε συμφωνία με δύο άλλες δημοσιευμένες μελέτες. Οι Tang και συνεργάτες¹⁴⁶ έχουν δείξει επίσης ότι τα επίπεδα του mRNA των κολλαγόνων τύπου I και III στα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής παραμένουν αμετάβλητα, παρόλα αυτά υπάρχει μία μείωση της τάξης του 45% του συνολικού πρωτεϊνικού περιεχομένου του κολλαγόνου στα ανευρύσματα σε σχέση με της φυσιολογικής διαμέτρου αορτές. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης συμφωνούν επίσης με τους Della Conte και συνεργάτες,¹⁵⁰ οι οποίοι έχουν δείξει μία σημαντική μείωση στα κύρια κολλαγόνα που σχηματίζουν ινίδια (τύπου I και III) στα ανευρύσματα ανιούσας θωρακικής αορτής σε σύγκριση με φυσιολογικής διαμέτρου αορτής. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης όσον αφορά στην έκφραση του mRNA και των πρωτεϊνών των ελασσόνων κολλαγόνων (τύπου XI-α1 και V) είναι μοναδικά στη βιβλιογραφία και καμία από τις παραπάνω μελέτες δεν εξέτασε το ρόλο τους στα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής σε επίπεδο mRNA ή επίπεδο πρωτεϊνικής έκφρασης.

Συμπερασματικά, η παρούσα μελέτη παρουσιάζει ένα πιθανό μοριακό μηχανισμό που περιγράφεται για πρώτη φορά και εμπλέκεται στη δημιουργία ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής σε ασθενείς με τρίπτυχη αορτική βαλβίδα ο οποίος βασίζεται στην υπερέκφραση των ελασσόνων κολλαγόνων που σχηματίζουν ινίδια, δηλαδή των κολλαγόνων τύπου XI-α1 και V, τα οποία ρυθμίζουν τη συμπλησίαση των κολλαγόνων τύπου I και III και το σχηματισμό ετεροτυπικών ινιδίων κολλαγόνου (εικόνα 4-1). Υπογραμμίζεται ο σημαντικός ρόλος του κολλαγόνου τύπου XI-α1 στη φυσιολογικής διαμέτρου ανθρώπινη ανιούσα θωρακική αορτή, όπως και η αυξημένη έκφρασή του στα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ξεκάθαρα ότι τα αυξημένα επίπεδα mRNA και πρωτεϊνών των κολλαγόνων τύπου XI-α1 και V σχετίζονται με τα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής και η έκφρασή τους συσχετίζεται γραμμικά με το μέγεθος του ανευρύσματος και με βάση τα ευρήματα αυτά προτείνεται ένας πιθανός μοριακός μηχανισμός για τη δημιουργία και την εξέλιξη των ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής.

Εικόνα 4-1. Ένας καινοτομικός μοριακός μηχανισμός που ελέγχει την αναδιαμόρφωση της θεμέλιας εξωκυττάριας ουσίας στα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής.



4.2 Συζήτηση δεύτερου μέρους της μελέτης

Στο δεύτερο μέρος της μελέτης παρουσιάζεται μία σειρά προκαταρκτικών βιοδεικτών στο περιφερικό αίμα για την ταυτοποίηση των ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής σε άνδρες και γυναίκες με τρίπτυχες ή δίπτυχες αορτικές βαλβίδες. Στη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκαν τόσο ασθενείς με τρίπτυχες αορτικές βαλβίδες όσο και ασθενείς με δίπτυχες αορτικές βαλβίδες όπως άνδρες και γυναίκες για τον καθορισμό αυτών των βιοδεικτών επειδή ακριβώς ο σκοπός της μελέτης ήταν να καταλήξει σε κάποιους βιοδείκτες που θα είχαν τη μεγαλύτερη δυνατή κλινική χρησιμότητα.¹⁵¹

Αρχικά πραγματοποιήθηκαν πρωτεομικές μελέτες για τον καθορισμό πιθανών υποψήφιων βιοδεικτών για ταυτοποίησή τους στο περιφερικό αίμα με τη χρήση qRT-PCR. Αυτές οι μελέτες έδειξαν σημαντικές διαφορές στην έκφραση πρωτεϊνών μεταξύ ανευρυσμάτων και φυσιολογικής διαμέτρου ανιούσας θωρακικής αορτής. Παρόλα αυτά, δεν βρέθηκαν διαφορές σε ασθενείς με ανευρύσματα και τρίπτυχη αορτική βαλβίδα ή δίπτυχη αορτική βαλβίδα και σε άνδρες σε σχέση με τις γυναίκες. Αυτά τα ευρήματα συμφωνούν με τον Fedak και συνεργάτες,¹⁵² οι οποίοι έδειξαν ότι δεν υπάρχει διαφορά στη γενομική έκφραση γονιδίων μεταξύ ασθενών με τρίπτυχες και δίπτυχες αορτικές βαλβίδες και αυτά τα δεδομένα είναι σε συμφωνία με τους μηχανισμούς που προτείνονται ότι οδηγούν στη ρήξη των ανευρυσμάτων.^{88,153,154}

Τόσο στα ανευρύσματα με τρίπτυχη αορτική βαλβίδα όσο και στα ανευρύσματα με δίπτυχη αορτική βαλβίδα η παρούσα μελέτη έδειξε τη συμμετοχή μοριακών μονοπατιών όπως αυτό της προσκόλλησης της ακτίνης, του κυτταροσκελετού και των πρωτεϊνών LIM domain, τα οποία εκφράζονται διαφορετικά στα μικρού και μεσαίου μεγέθους ανευρύσματα, ενώ μοριακά μονοπάτια όπως αυτά της οξείας φλεγμονώδους αντίδρασης και των πρωτεϊνών της θεμέλιας εξωκυττάριας ουσίας είχαν αυξημένη έκφραση στα μεγάλου μεγέθους ανευρύσματα.

Από τις παραπάνω μελέτες ταυτοποιήθηκαν 8 πρωτεΐνες που εκφράζονται σε όλα τα δείγματα αορτικού τοιχώματος ανεξάρτητα από το φύλο και το είδος της αορτικής βαλβίδας. Αυτές οι πρωτεΐνες είναι οι εξής: enolase 1 (ENO1), peptidyl-prolyl isomerase A (PPIA), plastin-3, calponin-1, S100-A4, four and a half LIM domains 1 (FHL1), cysteine and glycine-rich protein 1 (CSRP1) και cysteine glucine-

rich protein 2 (CRP2). Όλες αυτές οι πρωτεΐνες έχει βρεθεί ότι διαδραματίζουν σημαντικούς ρόλους κατά τη διαδικασία δημιουργίας των ανευρυσμάτων κυρίως μέσω της επίδρασής τους στις μεταλλοπρωτεΐνάσες.

Η πρωτεΐνη PPIA κωδικοποιεί την cyclophilin A η οποία έχει βρεθεί ότι σχετίζεται με την ενεργοποίηση μεταλλοπρωτεϊνών στη θεμέλια εξωκυττάρια ουσία.^{155,156} Η πρωτεΐνη calponin 1 αποτελεί έναν ρυθμιστή του μυϊκού τόνου των λείων μυϊκών κυττάρων και έχει αποδειχτεί ότι αποτελεί ταυτόχρονα και στόχο της μεταλλοπρωτεϊνάσης 2 (MMP-2).¹⁵⁷ Η πρωτεΐνη S100-A4 αποτελεί έναν διαβιβαστή σήματος ασβεστίου ο οποίος έχει δείχτεί να σχετίζεται θετικά με την έκκριση μεταλλοπρωτεϊνών από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τους ινοβλάστες και τη ρύθμιση της μεταγραφικής ενεργοποίησης του mRNA της κολλαγενάσης 3 (MMP-13) που ακολουθείται από απελευθέρωση της MMP-13 και πρωτεολυτική αποδόμηση της θεμέλιας εξωκυττάριας ουσίας.¹⁵⁸⁻¹⁶⁰ Η πρωτεΐνη ENOA1 είναι μία πρωτεΐνη με πολλαπλές λειτουργίες η οποία εμπλέκεται στη σύνθεση του πυροσταφυλικού οξέος αλλά ταυτόχρονα δρα και ως υποδοχέας του πλασμινογόνου, το οποίο ελέγχει την ενεργοποίηση της πλασμίνης οδηγώντας στην ενεργοποίηση μεταλλοπρωτεϊνών και στην αποδόμηση της θεμέλιας εξωκυττάριας ουσίας.¹⁵³ Η πρωτεΐνη CSRP1 εκφράζεται στα λεία μυϊκά κύτταρα και η πρωτεΐνη CRP2 αποτελεί έναν συμπαράγοντα της διαφοροποίησης των λείων μυϊκών κυττάρων.¹⁶¹ Πρόσφατες μελέτες με πειραματόζωα knock-out έχουν δείξει ότι ενώ οι CSRP1 και η CRP2 δεν είναι σημαντικές για το φυσιολογικό σχηματισμό νέου ενδοθηλίου εν τούτοις δρουν ανταγωνιστικά ώστε να ρυθμίζουν την απάντηση των λείων μυϊκών κυττάρων στο παθολογικό στρες.¹⁶² Η πρωτεΐνη plastin-3 που είναι γνωστή και ως fimbrin περιέχει ένα τμήμα που μπορεί να συνδέεται με το ασβέστιο και είναι διασπαρμένη στις ελαστικές ίνες του αορτικού τοιχώματος. Συνολικά όλες αυτές οι πρωτεΐνες και οι επιδράσεις τους στην έκφραση των μεταλλοπρωτεϊνών σε σχέση με τη δημιουργία ανευρυσμάτων στην ανιούσα θωρακική αορτή συμφωνούν με προηγούμενες κλινικές μελέτες που δείχνουν την αυξημένη έκφραση και ενεργοποίηση των μεταλλοπρωτεϊνών στην ανευρυσματική ανιούσα θωρακική αορτή.^{88,154}

Σε προκαταρκτικές αναλύσεις στην παρούσα μελέτη ελέγχθηκε ο ρόλος των διαφόρων πρωτεϊνών που είχαν διαφορετική έκφραση στον παθολογικό ανευρυσματικό ιστό με ανάλυση qRT-PCR στο περιφερικό αίμα και ελέγχθηκε διαγνωστική

αποτελεσματικότητα αυτών των βιοδεικτών. Η παρούσα ανάλυση έδειξε ότι μόνο το μεταγραφικό προϊόν που αντιστοιχεί στην πρωτεΐνη FHL1, η οποία αποτελεί μία μοναδική πρωτεΐνη που έχειδειχθεί ότι διαδραματίζει έναν σημαντικό ρόλο στη διαφοροποίηση των λείων μυϊκών κυττάρων, αποτέλεσε χρήσιμο βιοδείκτη στην ανάλυση του περιφερικού αίματος για την ταυτοποίηση των ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής με τη μέθοδο qRT-PCR.¹⁶³ Τα μεταγραφικά προϊόντα που αντιστοιχούν στις πρωτεΐνες ENOA1, CSRP1, CRP2 και PPIA δεν αποτέλεσαν βιοδείκτες στο περιφερικό αίμα για τη διάγνωση των ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής. Τα μεταγραφικά προϊόντα του κολλαγόνου τύπου I-α1, III-α1, V-α2 και XI-α1 χρησιμοποιήθηκαν επίσης σε αναλύσεις qRT-PCR στο περιφερικό αίμα με βάση τα αποτελέσματα του πρώτου μέρους της διδακτορικής διατριβής τα οποία έχουν ήδη δημοσιευτεί.¹⁴⁴

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν ότι η ταυτοποίηση των ασθενών με ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής με την ανάλυση μόνο περιφερικού αίματος είναι δυνατή και μάλιστα μόνο με την ανάλυση των μεταγραφικών προϊόντων των κολλαγόνων που έχουν την ιδιότητα να σχηματίζουν ινίδια ήταν δυνατή η ταυτοποίηση 30 ασθενών σε σύνολο 41 με γνωστά ανευρύσματα ανιούσας θωρακικής αορτής. Σ' αυτούς τους 30 ασθενείς τουλάχιστον 4 από τους 5 βιοδείκτες (κολλαγόνο τύπου I-α1, III-α1, V-α2 και XI-α1 και FHL1) που αναλύθηκαν παρουσίασαν σημαντικά αυξημένα επίπεδα σε σύγκριση με την ομάδα που είχε φυσιολογικής διαμέτρου ανιούσα θωρακική αορτή. Συνεπώς μπορεί να προταθεί ότι για μία αξιόπιστη ταυτοποίηση ενός ανευρύσματος της ανιούσας θωρακικής αορτής διαμέτρου >4.0cm, θα πρέπει τουλάχιστον 3 βιοδείκτες από τους 5 αναφερόμενους να παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα κατά 1.5 φορά σε σχέση με τα επίπεδα της ομάδας με φυσιολογικής διαμέτρου ανιούσα θωρακική αορτή (πίνακες 3-4 και 3-5). Με βάση αυτά τα κριτήρια στην παρούσα μελέτη κατέστη δυνατή η αξιόπιστη διάγνωση του 79.4% των ασθενών με ανεύρυσμα της ανιούσας θωρακικής αορτής ($P < 0.001$, ευαισθησία 0.79 και ειδικότητα 1.00).

Η ανάλυση του περιφερικού αίματος για τη διάγνωση ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής διαμέτρου >4.0cm μπορεί να πραγματοποιηθεί γρήγορα και αποτελεί μία πολύ οικονομική μέθοδο διαλογής των ηλικιωμένων ασθενών πριν τη χρήση πολύ πιο δαπανηρών απεικονιστικών εξετάσεων όπως η αξονική ή μαγνητική

τομογραφία και το υπερηχογράφημα καρδιάς.²⁹ Η ικανότητα για γρήγορη και αξιόπιστη διάγνωση πληθυσμών σε υψηλό κίνδυνο (π.χ. ηλικιωμένοι άνδρες καπνιστές με υπέρταση) για ανάπτυξη ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής μέσω της ανάλυσης περιφερικού αίματος αποτελεί άλλο ένα σημαντικό εργαλείο στα χέρια των κλινικών ιατρών και των χειρουργών και θα μπορούσε μέσω της έγκαιρης διάγνωσης να συντελέσει σημαντικά στη μείωση της νοσηρότητας και κυρίως της θνητότητας από μία ασθένεια όπως τα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής που στην πλειοψηφία των περιπτώσεων δεν δίνουν συμπτώματα και δυστυχώς όταν δίνουν είναι αργά για αποτελεσματικές θεραπείες. Η ευρεία χρήση των διαγνωστικών αιματολογικών εξετάσεων αποτελεί μία απλή εξέταση η οποία μπορεί να εφαρμόζεται τόσο σε μεγάλα νοσοκομεία όσο και σε μικρά διαγνωστικά κέντρα τα οποία δεν διαθέτουν όλη τη γκάμα των σύγχρονων απεικονιστικών εξετάσεων. Αυτό θα βοηθούσε πολύ τους ηλικιωμένους που χρειάζεται να εξεταστούν γιατί σε μία τέτοια περίπτωση δεν είναι απαραίτητη η μεταφορά τους σε μεγάλα τεταρτοβάθμια νοσοκομεία.²⁹

Πρέπει ωστόσο να σημειωθεί ότι η παρούσα μελέτη αποτελεί μία καινοτομική αρχική μελέτη στην προσπάθεια καθορισμού αξιόπιστων βιοδεικτών στο περιφερικό αίμα για τη διάγνωση των ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής και έχει περιορισμούς οι οποίοι συνίσταται στο μέγεθος του δείγματος που αναλύθηκε και στην ισχύ της μελέτης που απορρέει από αυτό, στο ότι το σύνολο των ασθενών που αναλύθηκαν άνηκαν στην καυκάσια φυλή και συνεπώς δεν μπορεί να στηριχτεί στο παρόν στάδιο μία γενικευμένη εφαρμογή των αποτελεσμάτων σε όλες τις φυλές ή σε διάφορες υποομάδες οι οποίες δεν αντιπροσωπεύτηκαν στην παρούσα μελέτη. Επίσης, οι ηλικίες και το παρόν δείγμα ασθενών είναι αντιπροσωπευτικό του κλινικού πληθυσμού που είχε τα κριτήρια να υποβληθεί σε χειρουργική επέμβαση για αντικατάσταση του ανευρύσματος της ανιούσας θωρακικής αορτής. Το σημαντικό και καινοτομικό συμπέρασμα όμως της παρούσας μελέτης είναι ότι ουσιαστικά ανοίγει έναν πολύ ελπιδοφόρο δρόμο για την αξιόπιστη διάγνωση των ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής με τη χρήση απλών και φτηνών εξετάσεων (qRT-PCR) περιφερικού αίματος, ειδικά στην περίπτωση που στη σημερινή εποχή τέτοιες εξετάσεις τείνουν να γίνουν καθημερινή ρουτίνα στα διαγνωστικά κέντρα.

5. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΥΠΩΝ ΚΟΛΛΑΓΟΝΟΥ ΠΟΥ ΣΧΗΜΑΤΙΖΟΥΝ ΙΝΙΔΙΑ ΣΤΑ ΑΝΕΥΡΥΣΜΑΤΑ ΤΗΣ ΑΝΙΟΥΣΑΣ ΘΩΡΑΚΙΚΗΣ ΑΟΡΤΗΣ

Ιωάννης Κ. Τούμπουλης

Εισαγωγή: Τα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής αποτελούν μία δυνητικά θανατηφόρο νόσο και ταυτόχρονα αποτελούν μία σημαντική αιτία θανάτου στο γηρασμένο γενικό πληθυσμό. Οι μοριακοί μηχανισμοί που οδηγούν στο σχηματισμό αυτών των ανευρυσμάτων δεν είναι πλήρως γνωστοί. Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η υπόθεση ότι αλλαγές στην έκφραση των επιπέδων των κολλαγόνων που σχηματίζουν ινίδια συμβαίνουν κατά τη διαδικασία δημιουργίας του ανευρύσματος.

Υλικό και μέθοδοι: Χειρουργικά δείγματα από ανθρώπινες ανιούσες θωρακικές αορτές από ασθενείς με εκφυλιστικά ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής συλλέχθηκαν και ταξινομήθηκαν ανάλογα με τη διάμετρο του ανευρύσματος σε μικρά, μεσαία και μεγάλα, τα οποία συγκρίθηκαν με φυσιολογικής διαμέτρου ανιούσες θωρακικές αορτές. Πέραν αυτών των αναλύσεων έγινε λεπτομερής πρωτεομική ανάλυση με απώτερο σκοπό να καθοριστούν βιοδείκτες στο περιφερικό αίμα με τη χρήση qRT-PCR που θα επιτρέψουν την ταυτοποίηση των ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής πριν εμφανίσουν οξύ αορτικό διαχωρισμό ή ρήξη.

Αποτελέσματα: Η ιστολογική ανάλυση, ο ανοσοφθορισμός, η ανοσοϊστοχημεία και η ηλεκτρονική μικροσκόπηση ανέδειξαν κατακερματισμό και αποδιοργάνωση των στοιχείων της θεμέλιας εξωκυττάριας ουσίας στα ανευρύσματα της ανιούσας θωρακικής αορτής σε σύγκριση με τη φυσιολογική αορτή, ενώ παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της έκφρασης του κολλαγόνου XI-α1 στις ανευρυσματικές περιοχές με κυστική εκφύλιση του μέσου χιτώνα. Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο παρατηρήθηκε μία στατιστικά σημαντική μείωση κατά 25% ($P < 0.001$) της διαμέτρου των ινιδίων κολλαγόνου στα ανευρύσματα. Η ανάλυση qRT-PCR έδειξε ότι τα ελάσσονα κολλαγόνα V και XI-α1 ήταν σημαντικά και γραμμικά αυξημένα σε σχέση με το μέγεθος του ανευρύσματος σε σύγκριση με τη φυσιολογική αορτή ($P < 0.001$). Η ανάλυση Western blot έδειξε ότι τα κολλαγόνα I και III ήταν σημαντικά μειωμένα ενώ

τα κολλαγόνα V και XI- α 1 ήταν σημαντικά αυξημένα και σε γραμμική συσχέτιση με το μέγεθος του ανευρύσματος ($P < 0.001$ για όλες τις περιπτώσεις). Πέντε βιοδείκτες στο περιφερικό αίμα βρέθηκαν ότι είναι κατάλληλοι για την ανίχνευση και ταυτοποίηση των ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής. Ανάλυση 41 δειγμάτων περιφερικού αίματος (19 μικρά ανευρύσματα, 13 μεσαία και 9 μεγάλα) έδειξε ότι η υπερέκφραση 3 από τους 5 βιοδείκτες έχει 100% ειδικότητα και 79% ευαισθησία στην ταυτοποίηση ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής μεγέθους άνω των 4.0cm σε άνδρες και γυναίκες.

Συμπεράσματα: Τα αυξημένα επίπεδα mRNA και πρωτεϊνών του κολλαγόνου V και XI- α 1 σχετίζονται γραμμικά με το μέγεθος του ανευρύσματος της ανιούσας θωρακικής αορτής και συμμετέχουν σε ένα μηχανισμό που περιγράφεται για πρώτη φορά και ο οποίος συμβάλει στη γένεση και την αύξηση των ανευρυσμάτων της ανιούσας θωρακικής αορτής. Η ικανότητα της γρήγορης αξιολόγησης της ύπαρξης ανευρύσματος της ανιούσας θωρακικής αορτής με βιοδείκτες που ανιχνεύονται στο περιφερικό αίμα έρχεται να διευκολύνει περαιτέρω τον κλινικό ιατρό και τον χειρουργό.

6. ABSTRACT

DIFFERENTIAL EXPRESSION OF COLLAGEN TYPE V AND XI- α 1 IN HUMAN ASCENDING THORACIC AORTIC ANEURYSMS

Ioannis K. Toupoulis

Background: Human ascending thoracic aortic aneurysms are life threatening and constitute a leading cause of mortality in the elderly. The molecular mechanisms leading to ascending thoracic aortic aneurysms remain unknown. In the present study was evaluated the hypothesis that alterations in expression levels of specific fibrillar collagens occur during the aneurysmal process.

Materials and methods: Surgical samples from human ascending thoracic aortas from patients with degenerative aneurysms were collected and were divided by aneurysm diameter to small, medium and large aneurysms and were compared with normal diameter ascending thoracic aortas. In addition detailed proteomic analysis was performed in order to determine biomarkers in the peripheral blood using qRT-PCR that will allow the identification of ascending thoracic aortic aneurysms prior to acute aortic dissection or aortic rupture.

Results: Histology, immunofluorescence, immunohistochemistry and transmission electron microscopy demonstrated greater fragmentation and disorganization of extracellular matrix constituents in ascending thoracic aortic aneurysms as compared with normal diameter aortas with an increase in collagen XI- α 1 within regions of cystic medial degenerative lesions. Transmission electron microscopy showed a statistically significant reduction of 25% ($P < 0.001$) in the diameter of collagen fibrils in ascending thoracic aortic aneurysms. Analysis with qRT-PCR showed collagens V and XI- α 1 were significantly and linearly increased in ascending thoracic aortic aneurysms compared to normal diameter aortas ($P < 0.001$). Western blot analysis showed collagen type I and III were significantly decreased and collagens XI- α 1 and V were significantly increased and were linearly correlated with the size of the aneurysm ($P < 0.001$ for all). Five biomarkers were identified as being suitable for detection and identification of ascending thoracic aortic aneurysms using qRT-PCR analysis of peripheral blood.

Analysis of 41 samples (19 small, 13 medium and 9 large ascending thoracic aortic aneurysms) demonstrated that the overexpression of 3 of 5 biomarkers provides 100% specificity and 79% sensitivity allowing identification of ascending thoracic aortic aneurysms 4.0cm or greater in males and females.

Conclusions: Increased collagen XI- α 1 and collagen V mRNA and protein levels are linearly correlated with the size of the aneurysm of the ascending thoracic aorta and provide for the first time a potential mechanism for the generation and progression of ascending thoracic aortic aneurysms. The ability to provide rapid evaluation of potential ascending thoracic aortic aneurysms in patients using peripheral blood strengthens the armamentarium currently available to clinicians and surgeons.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Majumder PP, St Jean PL, Ferrell RE, Webster MW, Steed DL. On the inheritance of abdominal aortic aneurysm. Am J Hum Genet 1991; 48:164-170.
2. Cohen JR, Graver LM. The ruptured abdominal aortic aneurysm of Albert Einstein. Surg Gynecol Obstet 1990; 170:455-458.
3. Chandler JJ. The Einstein sign: the clinical picture of acute cholecystitis caused by ruptured abdominal aortic aneurysm. N Engl J Med 1984; 310:1538.
4. Thompson JE. Early history of aortic surgery. J Vasc Surg 1998; 28:746-752.
5. Cooley DA. The history of surgery of the thoracic aorta. Cardiol Clin 1999; 17:609-613.
6. Cooley DA. Aortic aneurysm operations: past, present, and future. Ann Thorac Surg 1999; 67:1959-1962.
7. Lam CR, Aram HH. Resection of the descending thoracic aorta for aneurysm; a report of the use of a homograft in a case and an experimental study. Ann Surg 1951; 134:743-752.
8. De Bakey ME, Cooley DA. Successful resection of aneurysm of thoracic aorta and replacement by graft. J Am Med Assoc 1953; 152:673-676.
9. Etheredge SN, Yee J, Smith JV, Schonberger S, Goldman MJ. Successful resection of a large aneurysm of the upper abdominal aorta and replacement with homograft. Surgery 1955; 38:1071-1081.
10. Cooley DA, DE BAKY ME. Resection of entire ascending aorta in fusiform aneurysm using cardiac bypass. J Am Med Assoc 1956; 162:1158-1159.

11. De Bakey ME, Cooley DA, Crawford ES, Morris GC, Jr. Clinical application of a new flexible knitted dacron arterial substitute. *AMA Arch Surg* 1958; 77:713-724.
12. Crawford ES, Schuessler JS. Thoracoabdominal and abdominal aortic aneurysms involving celiac, superior mesenteric, and renal arteries. *World J Surg* 1980; 4:643-651.
13. Crawford ES, Crawford JL, Stowe CL, Safi HJ. Total aortic replacement for chronic aortic dissection occurring in patients with and without Marfan's syndrome. *Ann Surg* 1984; 199:358-362.
14. Crawford ES, Coselli JS, Svensson LG, Safi HJ, Hess KR. Diffuse aneurysmal disease (chronic aortic dissection, Marfan, and mega aorta syndromes) and multiple aneurysm. Treatment by subtotal and total aortic replacement emphasizing the elephant trunk operation. *Ann Surg* 1990; 211:521-537.
15. Svensson LG, Shahian DM, Davis FG, Entrup MH, Kimmel WA, McGrath DM et al. Replacement of entire aorta from aortic valve to bifurcation during one operation. *Ann Thorac Surg* 1994; 58:1164-1166.
16. Soutis M. Ancient Greek terminology in pediatric surgery: about the word meaning. *J Pediatr Surg* 2006; 41:1302-1308.
17. Coady MA, Rizzo JA, Elefteriades JA. Developing surgical intervention criteria for thoracic aortic aneurysms. *Cardiol Clin* 1999; 17:827-839.
18. Coady MA, Rizzo JA, Elefteriades JA. Pathologic variants of thoracic aortic dissections. Penetrating atherosclerotic ulcers and intramural hematomas. *Cardiol Clin* 1999; 17:637-657.
19. Coady MA, Rizzo JA, Goldstein LJ, Elefteriades JA. Natural history, pathogenesis, and etiology of thoracic aortic aneurysms and dissections. *Cardiol Clin* 1999; 17:615-635.

20. Elefteriades JA. Controversies in diseases of the aorta. Preface. *Cardiol Clin* 2010; 28:xvii.
21. Rizzo JA, Coady MA, Elefteriades JA. Interpreting data on thoracic aortic aneurysms. Statistical issues. *Cardiol Clin* 1999; 17:797-805, x.
22. Chow MJ, Mondonedo JR, Johnson VM, Zhang Y. Progressive structural and biomechanical changes in elastin degraded aorta. *Biomech Model Mechanobiol* 2013; 12:361-372.
23. Dingemans KP, Jansen N, Becker AE. Ultrastructure of the normal human aortic media. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol* 1981; 392:199-216.
24. Dingemans KP, Teeling P, Lagendijk JH, Becker AE. Extracellular matrix of the human aortic media: an ultrastructural histochemical and immunohistochemical study of the adult aortic media. *Anat Rec* 2000; 258:1-14.
25. Dingemans KP, Teeling P, van der Wal AC, Becker AE. Ultrastructural pathology of aortic dissections in patients with Marfan syndrome: Comparison with dissections in patients without Marfan syndrome. *Cardiovasc Pathol* 2006; 15:203-212.
26. Halloran BG, Davis VA, McManus BM, Lynch TG, Baxter BT. Localization of aortic disease is associated with intrinsic differences in aortic structure. *J Surg Res* 1995; 59:17-22.
27. Schlattmann TJ, Becker AE. Pathogenesis of dissecting aneurysm of aorta. Comparative histopathologic study of significance of medial changes. *Am J Cardiol* 1977; 39:21-26.
28. Elefteriades JA. Thoracic aortic aneurysm: reading the enemy's playbook. *Curr Probl Cardiol* 2008; 33:203-277.

29. Booher AM, Eagle KA. Diagnosis and management issues in thoracic aortic aneurysm. *Am Heart J* 2011; 162:38-46.
30. Safi HJ, Winnerkvist A, Miller CC, III, Iliopoulos DC, Reardon MJ, Espada R et al. Effect of extended cross-clamp time during thoracoabdominal aortic aneurysm repair. *Ann Thorac Surg* 1998; 66:1204-1209.
31. Safi HJ, Subramaniam MH, Miller CC, Coogan SM, Iliopoulos DC, Winnerkvist A et al. Progress in the management of type I thoracoabdominal and descending thoracic aortic aneurysms. *Ann Vasc Surg* 1999; 13:457-462.
32. Svensson LG, Crawford ES, Hess KR, Coselli JS, Safi HJ. Experience with 1509 patients undergoing thoracoabdominal aortic operations. *J Vasc Surg* 1993; 17:357-368.
33. DeBakey ME, McCollum CH, Crawford ES, Morris GC, Jr., Howell J, Noon GP et al. Dissection and dissecting aneurysms of the aorta: twenty-year follow-up of five hundred twenty-seven patients treated surgically. *Surgery* 1982; 92:1118-1134.
34. Daily PO, Trueblood HW, Stinson EB, Wuerflein RD, Shumway NE. Management of acute aortic dissections. *Ann Thorac Surg* 1970; 10:237-247.
35. Bickerstaff LK, Pairolero PC, Hollier LH, Melton LJ, Van Peenen HJ, Cherry KJ et al. Thoracic aortic aneurysms: a population-based study. *Surgery* 1982; 92:1103-1108.
36. Lilienfeld DE, Gunderson PD, Sprafka JM, Vargas C. Epidemiology of aortic aneurysms: I. Mortality trends in the United States, 1951 to 1981. *Arteriosclerosis* 1987; 7:637-643.

37. Elefteriades JA, Farkas EA. Thoracic aortic aneurysm clinically pertinent controversies and uncertainties. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55:841-857.
38. Acosta S, Ogren M, Bengtsson H, Bergqvist D, Lindblad B, Zdanowski Z. Increasing incidence of ruptured abdominal aortic aneurysm: a population-based study. *J Vasc Surg* 2006; 44:237-243.
39. Best VA, Price JF, Fowkes FG. Persistent increase in the incidence of abdominal aortic aneurysm in Scotland, 1981-2000. *Br J Surg* 2003; 90:1510-1515.
40. Clouse WD, Hallett JW, Jr., Schaff HV, Gayari MM, Ilstrup DM, Melton LJ, III. Improved prognosis of thoracic aortic aneurysms: a population-based study. *JAMA* 1998; 280:1926-1929.
41. Clouse WD, Hallett JW, Jr., Schaff HV, Spittell PC, Rowland CM, Ilstrup DM et al. Acute aortic dissection: population-based incidence compared with degenerative aortic aneurysm rupture. *Mayo Clin Proc* 2004; 79:176-180.
42. Fedak PW, David TE, Borger M, Verma S, Butany J, Weisel RD. Bicuspid aortic valve disease: recent insights in pathophysiology and treatment. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2005; 3:295-308.
43. Filipovic M, Goldacre MJ, Roberts SE, Yeates D, Duncan ME, Cook-Mozaffari P. Trends in mortality and hospital admission rates for abdominal aortic aneurysm in England and Wales, 1979-1999. *Br J Surg* 2005; 92:968-975.
44. Gillum RF. Epidemiology of aortic aneurysm in the United States. *J Clin Epidemiol* 1995; 48:1289-1298.
45. Golledge J, Muller J, Daugherty A, Norman P. Abdominal aortic aneurysm: pathogenesis and implications for management. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26:2605-2613.

46. Hagan PG, Nienaber CA, Isselbacher EM, Bruckman D, Karavite DJ, Russman PL et al. The International Registry of Acute Aortic Dissection (IRAD): new insights into an old disease. JAMA 2000; 283:897-903.
47. Johansson G, Markstrom U, Swedenborg J. Ruptured thoracic aortic aneurysms: a study of incidence and mortality rates. J Vasc Surg 1995; 21:985-988.
48. Reitsma JB, Pleumeekers HJ, Hoes AW, Kleijnen J, de Groot RM, Jacobs MJ et al. Increasing incidence of aneurysms of the abdominal aorta in The Netherlands. Eur J Vasc Endovasc Surg 1996; 12:446-451.
49. Scott RA, Wilson NM, Ashton HA, Kay DN. Influence of screening on the incidence of ruptured abdominal aortic aneurysm: 5-year results of a randomized controlled study. Br J Surg 1995; 82:1066-1070.
50. Wanhainen A, Lundkvist J, Bergqvist D, Bjorck M. Cost-effectiveness of screening women for abdominal aortic aneurysm. J Vasc Surg 2006; 43:908-914.
51. Ward C. Clinical significance of the bicuspid aortic valve. Heart 2000; 83:81-85.
52. Shores J, Berger KR, Murphy EA, Pyeritz RE. Progression of aortic dilatation and the benefit of long-term beta-adrenergic blockade in Marfan's syndrome. N Engl J Med 1994; 330:1335-1341.
53. Habashi JP, Judge DP, Holm TM, Cohn RD, Loeys BL, Cooper TK et al. Losartan, an AT1 antagonist, prevents aortic aneurysm in a mouse model of Marfan syndrome. Science 2006; 312:117-121.
54. Habashi JP, Doyle JJ, Holm TM, Aziz H, Schoenhoff F, Bedja D et al. Angiotensin II type 2 receptor signaling attenuates aortic aneurysm in mice through ERK antagonism. Science 2011; 332:361-365.

55. Cooley DA, DE BAKEY ME. Surgical considerations of intrathoracic aneurysms of the aorta and great vessels. *Ann Surg* 1952; 135:660-680.
56. Achneck HE, Rizzo JA, Tranquilli M, Elefteriades JA. Safety of thoracic aortic surgery in the present era. *Ann Thorac Surg* 2007; 84:1180-1185.
57. Elefteriades JA. What operation for acute type A dissection? *J Thorac Cardiovasc Surg* 2002; 123:201-203.
58. Coady MA, Rizzo JA, Hammond GL, Mandapati D, Darr U, Kopf GS et al. What is the appropriate size criterion for resection of thoracic aortic aneurysms? *J Thorac Cardiovasc Surg* 1997; 113:476-491.
59. Davies RR, Goldstein LJ, Coady MA, Tittle SL, Rizzo JA, Kopf GS et al. Yearly rupture or dissection rates for thoracic aortic aneurysms: simple prediction based on size. *Ann Thorac Surg* 2002; 73:17-27.
60. Davies RR, Gallo A, Coady MA, Tellides G, Botta DM, Burke B et al. Novel measurement of relative aortic size predicts rupture of thoracic aortic aneurysms. *Ann Thorac Surg* 2006; 81:169-177.
61. Elefteriades JA. Beating a sudden killer. *Sci Am* 2005; 293:64-71.
62. Elefteriades JA, Rizzo JA, Coady MA. Thoracic aorta. *Radiology* 1999; 211:889.
63. Elefteriades JA, Tranquilli M, Darr U, Cardon J, Zhu BQ, Barrett P. Symptoms plus family history trump size in thoracic aortic aneurysm. *Ann Thorac Surg* 2005; 80:1098-1100.
64. Bergqvist D, Bjorck M, Wanhainen A. Treatment of vascular ehlers-danlos syndrome: a systematic review. *Ann Surg* 2013; 258:257-261.
65. Dietz HC. Marfan Syndrome. *Book Chapter* 1993.

66. Dietz HC, Loeys B, Carta L, Ramirez F. Recent progress towards a molecular understanding of Marfan syndrome. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2005; 139C:4-9.
67. Dietz HC. TGF-beta in the pathogenesis and prevention of disease: a matter of aneurysmic proportions. *J Clin Invest* 2010; 120:403-407.
68. Jondeau G, Boileau C. Genetics of thoracic aortic aneurysms. *Curr Atheroscler Rep* 2012; 14:219-226.
69. Loeys BL, Schwarze U, Holm T, Callewaert BL, Thomas GH, Pannu H et al. Aneurysm syndromes caused by mutations in the TGF-beta receptor. *N Engl J Med* 2006; 355:788-798.
70. Loeys BL, Dietz HC, Braverman AC, Callewaert BL, De BJ, Devereux RB et al. The revised Ghent nosology for the Marfan syndrome. *J Med Genet* 2010; 47:476-485.
71. Mizuno K, Boudko S, Engel J, Bachinger HP. Vascular Ehlers-Danlos Syndrome Mutations in Type III Collagen Differently Stall the Triple Helical Folding. *J Biol Chem* 2013; 288:19166-19176.
72. Borger MA, Preston M, Ivanov J, Fedak PW, Davierwala P, Armstrong S et al. Should the ascending aorta be replaced more frequently in patients with bicuspid aortic valve disease? *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004; 128:677-683.
73. Braverman AC, Guven H, Beardslee MA, Makan M, Kates AM, Moon MR. The bicuspid aortic valve. *Curr Probl Cardiol* 2005; 30:470-522.
74. Cecconi M, Manfrin M, Moraca A, Zanolli R, Colonna PL, Bettuzzi MG et al. Aortic dimensions in patients with bicuspid aortic valve without significant valve dysfunction. *Am J Cardiol* 2005; 95:292-294.

75. Cecconi M, Nistri S, Quarti A, Manfrin M, Colonna PL, Molini E et al. Aortic dilatation in patients with bicuspid aortic valve. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)* 2006; 7:11-20.
76. Davies RR, Kaple RK, Mandapati D, Gallo A, Botta DM, Jr., Elefteriades JA et al. Natural history of ascending aortic aneurysms in the setting of an unreplaced bicuspid aortic valve. *Ann Thorac Surg* 2007; 83:1338-1344.
77. Garg V. Molecular genetics of aortic valve disease. *Curr Opin Cardiol* 2006; 21:180-184.
78. Gleason TG. Heritable disorders predisposing to aortic dissection. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 2005; 17:274-281.
79. Russo CF, Mazzetti S, Garatti A, Ribera E, Milazzo A, Bruschi G et al. Aortic complications after bicuspid aortic valve replacement: long-term results. *Ann Thorac Surg* 2002; 74:S1773-S1776.
80. Sans-Coma V, Fernandez B, Duran AC, Thiene G, Arque JM, Munoz-Chapuli R et al. Fusion of valve cushions as a key factor in the formation of congenital bicuspid aortic valves in Syrian hamsters. *Anat Rec* 1996; 244:490-498.
81. Siu SC, Silversides CK. Bicuspid aortic valve disease. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55:2789-2800.
82. Thanassoulis G, Yip JW, Filion K, Jamorski M, Webb G, Siu SC et al. Retrospective study to identify predictors of the presence and rapid progression of aortic dilatation in patients with bicuspid aortic valves. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2008; 5:821-828.
83. Tzemos N, Therrien J, Yip J, Thanassoulis G, Tremblay S, Jamorski MT et al. Outcomes in adults with bicuspid aortic valves. *JAMA* 2008; 300:1317-1325.

84. Brinckerhoff CE, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: a tail of a frog that became a prince. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002; 3:207-214.
85. Balistreri CR, Pisano C, Candore G, Maresi E, Codispoti M, Ruvolo G. Focus on the unique mechanisms involved in thoracic aortic aneurysm formation in bicuspid aortic valve versus tricuspid aortic valve patients: clinical implications of a pilot study. *Eur J Cardiothorac Surg* 2013; 43:e180-e186.
86. Barbour JR, Spinale FG, Ikonomidis JS. Proteinase systems and thoracic aortic aneurysm progression. *J Surg Res* 2007; 139:292-307.
87. Ikonomidis JS, Ruddy JM, Benton SM, Jr., Arroyo J, Brinsa TA, Stroud RE et al. Aortic dilatation with bicuspid aortic valves: cusp fusion correlates to matrix metalloproteinases and inhibitors. *Ann Thorac Surg* 2012; 93:457-463.
88. Jackson V, Olsson T, Kurtovic S, Folkersen L, Paloschi V, Wagsater D et al. Matrix metalloproteinase 14 and 19 expression is associated with thoracic aortic aneurysms. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2012; 144:459-466.
89. Koullias GJ, Ravichandran P, Korkolis DP, Rimm DL, Elefteriades JA. Increased tissue microarray matrix metalloproteinase expression favors proteolysis in thoracic aortic aneurysms and dissections. *Ann Thorac Surg* 2004; 78:2106-2110.
90. LeMaire SA, Wang X, Wilks JA, Carter SA, Wen S, Won T et al. Matrix metalloproteinases in ascending aortic aneurysms: bicuspid versus trileaflet aortic valves. *J Surg Res* 2005; 123:40-48.
91. Segura AM, Luna RE, Horiba K, Stetler-Stevenson WG, McAllister HA, Jr., Willerson JT et al. Immunohistochemistry of matrix metalloproteinases and their inhibitors in thoracic aortic aneurysms and aortic valves of patients with Marfan's syndrome. *Circulation* 1998; 98:II331-II337.

92. Taketani T, Imai Y, Morota T, Maemura K, Morita H, Hayashi D et al. Altered patterns of gene expression specific to thoracic aortic aneurysms: microarray analysis of surgically resected specimens. *Int Heart J* 2005; 46:265-277.
93. Schonbeck U, Sukhova GK, Gerdes N, Libby P. T(H)2 predominant immune responses prevail in human abdominal aortic aneurysm. *Am J Pathol* 2002; 161:499-506.
94. Tang PC, Yakimov AO, Teesdale MA, Coady MA, Dardik A, Elefteriades JA et al. Transmural inflammation by interferon-gamma-producing T cells correlates with outward vascular remodeling and intimal expansion of ascending thoracic aortic aneurysms. *FASEB J* 2005; 19:1528-1530.
95. Mizuguchi T, Collod-Beroud G, Akiyama T, Abifadel M, Harada N, Morisaki T et al. Heterozygous TGFBR2 mutations in Marfan syndrome. *Nat Genet* 2004; 36:855-860.
96. Loeys BL, Chen J, Neptune ER, Judge DP, Podowski M, Holm T et al. A syndrome of altered cardiovascular, craniofacial, neurocognitive and skeletal development caused by mutations in TGFBR1 or TGFBR2. *Nat Genet* 2005; 37:275-281.
97. Henderson EL, Geng YJ, Sukhova GK, Whittemore AD, Knox J, Libby P. Death of smooth muscle cells and expression of mediators of apoptosis by T lymphocytes in human abdominal aortic aneurysms. *Circulation* 1999; 99:96-104.
98. Jacob MP, Badier-Commander C, Fontaine V, Benazzoug Y, Feldman L, Michel JB. Extracellular matrix remodeling in the vascular wall. *Pathol Biol (Paris)* 2001; 49:326-332.
99. Liao S, Curci JA, Kelley BJ, Sicard GA, Thompson RW. Accelerated replicative senescence of medial smooth muscle cells derived from

abdominal aortic aneurysms compared to the adjacent inferior mesenteric artery. J Surg Res 2000; 92:85-95.

100. Rowe VL, Stevens SL, Reddick TT, Freeman MB, Donnell R, Carroll RC et al. Vascular smooth muscle cell apoptosis in aneurysmal, occlusive, and normal human aortas. J Vasc Surg 2000; 31:567-576.
101. Koullias G, Modak R, Tranquilli M, Korkolis DP, Barash P, Elefteriades JA. Mechanical deterioration underlies malignant behavior of aneurysmal human ascending aorta. J Thorac Cardiovasc Surg 2005; 130:677-683.
102. Svensson LG, Adams DH, Bonow RO, Kouchoukos NT, Miller DC, O'Gara PT et al. Aortic valve and ascending aorta guidelines for management and quality measures. Ann Thorac Surg 2013; 95:S1-66.
103. Bonow RO, Carabello BA, Chatterjee K, de Leon ACJ, Faxon DP, Freed MD et al. 2008 focused update incorporated into the ACC/AHA 2006 guidelines for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to revise the 1998 guidelines for the management of patients with valvular heart disease). Endorsed by the Society of Cardiovascular Anesthesiologists, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and Society of Thoracic Surgeons. J Am Coll Cardiol 2008; 52:e1-142.
104. Hiratzka LF, Bakris GL, Beckman JA, Bersin RM, Carr VF, Casey DE, Jr. et al. 2010 ACCF/AHA/AATS/ACR/ASA/SCA/SCAI/SIR/STS/SVM Guidelines for the diagnosis and management of patients with thoracic aortic disease. A Report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines, American Association for Thoracic Surgery, American College of Radiology, American Stroke Association, Society of

Cardiovascular Anesthesiologists, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society of Interventional Radiology, Society of Thoracic Surgeons, and Society for Vascular Medicine. J Am Coll Cardiol 2010; 55:e27-e129.

105. Elefteriades JA, Hatzaras I, Tranquilli MA, Elefteriades AJ, Stout R, Shaw RK et al. Weight lifting and rupture of silent aortic aneurysms. JAMA 2003; 290:2803.
106. Hatzaras I, Tranquilli M, Coady M, Barrett PM, Bible J, Elefteriades JA. Weight lifting and aortic dissection: more evidence for a connection. Cardiology 2007; 107:103-106.
107. Hatzaras IS, Bible JE, Koullias GJ, Tranquilli M, Singh M, Elefteriades JA. Role of exertion or emotion as inciting events for acute aortic dissection. Am J Cardiol 2007; 100:1470-1472.
108. Birk DE, Trelstad RL. Extracellular compartments in matrix morphogenesis: collagen fibril, bundle, and lamellar formation by corneal fibroblasts. J Cell Biol 1984; 99:2024-2033.
109. Birk DE, Zycband EI, Winkelmann DA, Trelstad RL. Collagen fibrillogenesis in situ. Discontinuous segmental assembly in extracellular compartments. Ann N Y Acad Sci 1990; 580:176-194.
110. Gelse K, Poschl E, Aigner T. Collagens--structure, function, and biosynthesis. Adv Drug Deliv Rev 2003; 55:1531-1546.
111. Birk DE. Type V collagen: heterotypic type I/V collagen interactions in the regulation of fibril assembly. Micron 2001; 32:223-237.
112. Wenstrup RJ, Florer JB, Brunskill EW, Bell SM, Chervoneva I, Birk DE. Type V collagen controls the initiation of collagen fibril assembly. J Biol Chem 2004; 279:53331-53337.

113. Adachi E, Hayashi T. In vitro formation of hybrid fibrils of type V collagen and type I collagen. Limited growth of type I collagen into thick fibrils by type V collagen. *Connect Tissue Res* 1986; 14:257-266.
114. Kadler KE, Hill A, Canty-Laird EG. Collagen fibrillogenesis: fibronectin, integrins, and minor collagens as organizers and nucleators. *Curr Opin Cell Biol* 2008; 20:495-501.
115. Hansen U, Bruckner P. Macromolecular specificity of collagen fibrillogenesis: fibrils of collagens I and XI contain a heterotypic alloyed core and a collagen I sheath. *J Biol Chem* 2003; 278:37352-37359.
116. Brown KE, Lawrence R, Sonenshein GE. Concerted modulation of alpha 1(XI) and alpha 2(V) collagen mRNAs in bovine vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* 1991; 266:23268-23273.
117. Kypreos KE, Sonenshein GE. Basic fibroblast growth factor decreases type V/XI collagen expression in cultured bovine aortic smooth muscle cells. *J Cell Biochem* 1998; 68:247-258.
118. Kypreos KE, Birk D, Trinkaus-Randall V, Hartmann DJ, Sonenshein GE. Type V collagen regulates the assembly of collagen fibrils in cultures of bovine vascular smooth muscle cells. *J Cell Biochem* 2000; 80:146-155.
119. Fallahi A, Kroll B, Warner LR, Oxford RJ, Irwin KM, Mercer LM et al. Structural model of the amino propeptide of collagen XI alpha1 chain with similarity to the LNS domains. *Protein Sci* 2005; 14:1526-1537.
120. Unsold C, Pappano WN, Imamura Y, Steiglitiz BM, Greenspan DS. Biosynthetic processing of the pro-alpha 1(V)2pro-alpha 2(V) collagen heterotrimer by bone morphogenetic protein-1 and furin-like proprotein convertases. *J Biol Chem* 2002; 277:5596-5602.

121. Elzie CA, Murphy-Ullrich JE. The N-terminus of thrombospondin: the domain stands apart. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36:1090-1101.
122. Leitingner B, Hohenester E. Mammalian collagen receptors. *Matrix Biol* 2007; 26:146-155.
123. Gregory KE, Oxford JT, Chen Y, Gambia JE, Gygi SP, Aebersold R et al. Structural organization of distinct domains within the non-collagenous N-terminal region of collagen type XI. *J Biol Chem* 2000; 275:11498-11506.
124. Oxford JT, DeScala J, Morris N, Gregory K, Medeck R, Irwin K et al. Interaction between amino propeptides of type XI procollagen alpha1 chains. *J Biol Chem* 2004; 279:10939-10945.
125. Warner LR, Brown RJ, Yingst SM, Oxford JT. Isoform-specific heparan sulfate binding within the amino-terminal noncollagenous domain of collagen alpha1(XI). *J Biol Chem* 2006; 281:39507-39516.
126. Warner LR, Blasick CM, Brown RJ, Oxford JT. Expression, purification, and refolding of recombinant collagen alpha1(XI) amino terminal domain splice variants. *Protein Expr Purif* 2007; 52:403-409.
127. Medeck RJ, Sosa S, Morris N, Oxford JT. BMP-1-mediated proteolytic processing of alternatively spliced isoforms of collagen type XI. *Biochem J* 2003; 376:361-368.
128. Iyama K, Sumiyoshi H, Khaleduzzaman M, Matsuo N, Ninomiya Y, Yoshioka H. Differential expression of two exons of the alpha1(XI) collagen gene (Col11a1) in the mouse embryo. *Matrix Biol* 2001; 20:53-61.
129. Murata K, Motayama T, Kotake C. Collagen types in various layers of the human aorta and their changes with the atherosclerotic process. *Atherosclerosis* 1986; 60:251-262.

130. Murata K, Kotake C, Motoyama T. Collagen species in human aorta: with special reference to basement membrane-associated collagens in the intima and media and their alteration with atherosclerosis. *Artery* 1987; 14:229-247.
131. Li Y, Lacerda DA, Warman ML, Beier DR, Yoshioka H, Ninomiya Y et al. A fibrillar collagen gene, *Col11a1*, is essential for skeletal morphogenesis. *Cell* 1995; 80:423-430.
132. Elefteriades JA. Natural history of thoracic aortic aneurysms: indications for surgery, and surgical versus nonsurgical risks. *Ann Thorac Surg* 2002; 74:S1877-S1880.
133. Minino AM, Heron MP, Murphy SL, Kochanek KD. Deaths: final data for 2004. *Natl Vital Stat Rep* 2007; 55:1-119.
134. Upadhye S, Schiff K. Acute aortic dissection in the emergency department: diagnostic challenges and evidence-based management. *Emerg Med Clin North Am* 2012; 30:307-27, viii.
135. Wittels K. Aortic emergencies. *Emerg Med Clin North Am* 2011; 29:789-800, vii.
136. Ince H, Nienaber CA. Etiology, pathogenesis and management of thoracic aortic aneurysm. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2007; 4:418-427.
137. Kirsch EW, Radu NC, Gervais M, Allaire E, Loisanse DY. Heterogeneity in the remodeling of aneurysms of the ascending aorta with tricuspid aortic valves. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006; 132:1010-1016.
138. Bhatti AF, Ewing DR, Jordan TP, McCaffrey TA, Gefen JY, Tilson MD. Role of collagen XI in the pathogenesis of the abdominal aortic aneurysm. *J Am Coll Surg* 195, S101. 2002.

139. Tansey EE, Kwaku KF, Hammer PE, Cowan DB, Federman M, Levitsky S et al. Reduction and redistribution of gap and adherens junction proteins after ischemia and reperfusion. *Ann Thorac Surg* 2006; 82:1472-1479.
140. Holund B, Clemmensen I. The value of hyaluronidase treatment of different tissues before demonstration of fibronectin by the indirect immunoperoxidase technique. *Histochemistry* 1982; 76:517-525.
141. Bowen KB, Reimers AP, Luman S, Kronz JD, Fyffe WE, Oxford JT. Immunohistochemical localization of collagen type XI alpha1 and alpha2 chains in human colon tissue. *J Histochem Cytochem* 2008; 56:275-283.
142. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res* 2001; 29:e45.
143. Black KM, Barnett RJ, Bhasin MK, Daly C, Dillon ST, Libermann TA et al. Microarray and proteomic analysis of the cardioprotective effects of cold blood cardioplegia in the mature and aged male and female. *Physiol Genomics* 2012; 44:1027-1041.
144. Toumpoulis IK, Oxford JT, Cowan DB, Anagnostopoulos CE, Rokkas CK, Chamogeorgakis TP et al. Differential expression of collagen type V and XI alpha-1 in human ascending thoracic aortic aneurysms. *Ann Thorac Surg* 2009; 88:506-513.
145. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{(-Delta Delta C(T))} Method. *Methods* 2001; 25:402-408.
146. Tang PC, Coady MA, Lovoulos C, Dardik A, Aslan M, Eleftheriades JA et al. Hyperplastic cellular remodeling of the media in ascending thoracic aortic aneurysms. *Circulation* 2005; 112:1098-1105.

147. Lesauskaite V, Tanganelli P, Sassi C, Neri E, Diciolla F, Ivanoviene L et al. Smooth muscle cells of the media in the dilatative pathology of ascending thoracic aorta: morphology, immunoreactivity for osteopontin, matrix metalloproteinases, and their inhibitors. *Hum Pathol* 2001; 32:1003-1011.
148. Majumdar R, Miller DV, Ballman KV, Unnikrishnan G, McKellar SH, Sarkar G et al. Elevated expressions of osteopontin and tenascin C in ascending aortic aneurysms are associated with trileaflet aortic valves as compared with bicuspid aortic valves. *Cardiovasc Pathol* 2007; 16:144-150.
149. Ikonomidis JS, Jones JA, Barbour JR, Stroud RE, Clark LL, Kaplan BS et al. Expression of matrix metalloproteinases and endogenous inhibitors within ascending aortic aneurysms of patients with bicuspid or tricuspid aortic valves. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007; 133:1028-1036.
150. Della CA, Quarto C, Bancone C, Castaldo C, Di MF, Nurzynska D et al. Spatiotemporal patterns of smooth muscle cell changes in ascending aortic dilatation with bicuspid and tricuspid aortic valve stenosis: focus on cell-matrix signaling. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2008; 135:8-18, 18.
151. Pisano C, Maresi E, Balistreri CR, Candore G, Merlo D, Fattouch K et al. Histological and genetic studies in patients with bicuspid aortic valve and ascending aorta complications. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2012; 14:300-306.
152. Fedak PW, Verma S, David TE, Leask RL, Weisel RD, Butany J. Clinical and pathophysiological implications of a bicuspid aortic valve. *Circulation* 2002; 106:900-904.
153. Capello M, Ferri-Borgogno S, Cappello P, Novelli F. alpha-Enolase: a promising therapeutic and diagnostic tumor target. *FEBS J* 2011; 278:1064-1074.

154. Theruvath TP, Jones JA, Ikonomidis JS. Matrix metalloproteinases and descending aortic aneurysms: parity, disparity, and switch. *J Card Surg* 2012; 27:81-90.
155. Satoh K, Nigro P, Matoba T, O'Dell MR, Cui Z, Shi X et al. Cyclophilin A enhances vascular oxidative stress and the development of angiotensin II-induced aortic aneurysms. *Nat Med* 2009; 15:649-656.
156. Weintraub NL. Understanding abdominal aortic aneurysm. *N Engl J Med* 2009; 361:1114-1116.
157. Castro MM, Cena J, Cho WJ, Walsh MP, Schulz R. Matrix metalloproteinase-2 proteolysis of calponin-1 contributes to vascular hypocontractility in endotoxemic rats. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012; 32:662-668.
158. Lases EC, Schepens MA, Haas FJ, Aarts LP, ter Beek HT, van Dongen EP et al. Clinical prospective study of biochemical markers and evoked potentials for identifying adverse neurological outcome after thoracic and thoracoabdominal aortic aneurysm surgery. *Br J Anaesth* 2005; 95:651-661.
159. Schmidt-Hansen B, Ornas D, Grigorian M, Klingelhofer J, Tulchinsky E, Lukanidin E et al. Extracellular S100A4(mts1) stimulates invasive growth of mouse endothelial cells and modulates MMP-13 matrix metalloproteinase activity. *Oncogene* 2004; 23:5487-5495.
160. Zhang HY, Zheng XZ, Wang XH, Xuan XY, Wang F, Li SS. S100A4 mediated cell invasion and metastasis of esophageal squamous cell carcinoma via the regulation of MMP-2 and E-cadherin activity. *Mol Biol Rep* 2012; 39:199-208.
161. Kihara T, Shinohara S, Fujikawa R, Sugimoto Y, Murata M, Miyake J. Regulation of cysteine-rich protein 2 localization by the development of

actin fibers during smooth muscle cell differentiation. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 411:96-101.

162. Lilly B, Clark KA, Yoshigi M, Pronovost S, Wu ML, Periasamy M et al. Loss of the serum response factor cofactor, cysteine-rich protein 1, attenuates neointima formation in the mouse. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30:694-701.
163. Morgan MJ, Madgwick AJ, Charleston B, Pell JM, Loughna PT. The developmental regulation of a novel muscle LIM-protein. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 212:840-846.

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΟΝΟΜΑ : Ιωάννης
ΕΠΩΝΥΜΟ : Τούμπουλης
ΟΝΟΜΑ ΠΑΤΕΡΑ : Κωνσταντίνος
ΟΝΟΜΑ ΜΗΤΕΡΑΣ : Νικολίτσα
ΤΟΠΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ : Κάτω Αχαΐα Δύμης Αχαΐας
ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ : 07/09/1975
ΓΕΝΝΗΣΗΣ

ΥΠΗΚΟΟΤΗΤΑ : Ελληνική
ΤΙΤΛΟΣ : Λέκτορας Καρδιοχειρουργικής ΕΚΠΑ,
Π.Γ.Ν. «ΑΤΤΙΚΟΝ»
ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ : Αγγλική, Γαλλική
ΧΡΗΣΗ Η/Υ : Άριστη χρήση ηλεκτρονικού υπολογιστή
(Internet: Browsing, E-mail, Medline, Find
papers in PDF format, Search Engine,
Εφαρμογές: Microsoft Office 2010: Word,
Excel, Power Point, Στατιστική: STATA/CE
12.0 και SPSS 20.0: Parametric and non-
parametric tests, Kaplan-Meier, Logistic
regression, Cox Regression, Hazard
estimates)
ΔΙΑΜΟΝΗ (ΕΛΛΑΔΑ) : Γεωργίου Σισίνη 31, Αθήνα Τ.Κ. 11528
ΤΗΛΕΦΩΝΟ : 210-724-0354, κιν: 697-724-3942
E-MAIL : toumpoul@otenet.gr

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

- 1990-1993 : Λύκειο Κάτω Αχαΐας. Το 1993 αποφοίτησα από το Λύκειο Κάτω Αχαΐας με βαθμό «**Άριστα**» (20).
- 1993 : Μετά από επιτυχείς Γενικές Πανελλαδικές Εξετάσεις, εισήχθηκα στην **Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων**. Για την επίδοση εισαγωγής μου, πήρα υποτροφία από το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών.
- 1994 : Μετά από επιτυχείς Γενικές Πανελλαδικές Εξετάσεις εισήχθηκα στην **Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Πατρών**. Τελικά, όμως, προτίμησα να συνεχίσω τις σπουδές μου στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, επειδή έπρεπε να ξεκινήσω τις σπουδές μου από το πρώτο έτος, το οποίο ήδη είχα ολοκληρώσει με επιτυχία στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
- 1993 έως 1999: Φοίτησα στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
- 30/07/1999 : Πτυχίο Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων με βαθμό «**Άριστα**» (8,54).
- 04/08/1999 : Άδεια ασκήσεως του Ιατρικού Επαγγέλματος.
- 21/09/1999 : Διορισμός στο Περιφερειακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων «Γ. Χατζηκώστα» προς εκπλήρωση της τρίμηνης υποχρεωτικής εκπαίδευσης στα πλαίσια της υπηρεσίας υπαίθρου.
- 29/09/1999 έως 28/12/1999 : Καρδιολογική, Χειρουργική και Παθολογική κλινική στο Περιφερειακό Γενικό Νοσοκομείο Ιωαννίνων «Γ. Χατζηκώστα».
- 29/12/1999 έως 28/12/2000 : Αγροτικός Ιατρός στο Περιφερειακό Ιατρείο Σενίκου, όπου πηγαίνω μία φορά την εβδομάδα. Παράλληλα, τις υπόλοιπες ημέρες της εβδομάδας συμμετέχω στο κλινικό, χειρουργικό και ερευνητικό έργο της Πανεπιστημιακής Καρδιοχειρουργικής Κλινικής Ιωαννίνων υπό την επίβλεψη του διευθυντή της κλινικής Καθηγητή Κωνσταντίνου Ε. Αναγνωστόπουλου.
- 13/12/2000 : Ανάθεση εκπόνησης διδακτορικής διατριβής στο Χειρουργικό Τομέα, στο γνωστικό αντικείμενο της Καρδιοχειρουργικής στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Το θέμα της διατριβής είναι το εξής: «Ο ρόλος του ισχαιμικού preconditioning στην προστασία του νωτιαίου μυελού μετά από αποκλεισμό της κατιούσας θωρακικής αορτής». Επιβλέπων: Κωνσταντίνος Ε. Αναγνωστόπουλος.

- 22/2/2001 : Διορισμός στην Πανεπιστημιακή Χειρουργική Κλινική του Περιφερειακού Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων με βάση την αριθμ. Υ108/1373/5-2-2001 απόφαση του Υπουργείου Υγείας και Πρόνοιας ώστε να συμπληρώσω 3 χρόνια άσκηση στη γενική χειρουργική που προαπαιτείται της χειρουργικής θώρακος-καρδιάς.
- 22/2/2001 έως 23/11/2003 : Ειδικευόμενος στην Πανεπιστημιακή Χειρουργική Κλινική του Περιφερειακού Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων.
- 22/4/2002 έως 3/5/2002 : Επίσκεψη στο ερευνητικό εργαστήριο Καρδιοχειρουργικής και Θωρακοχειρουργικής του Πανεπιστημίου της Virginia (Charlottesville, VA, USA – διευθυντής Dr. Irving Kron), όπου συμμετείχα σε πειράματα και σε επιστημονικές συζητήσεις στο θέμα της προστασίας του νωτιαίου μυελού μετά από αποκλεισμό της αορτής.
- 16/12/2003 : Κατάθεση διδακτορικής διατριβής με θέμα: «Ο ρόλος του ισχαιμικού preconditioning στην προστασία του νωτιαίου μυελού μετά από αποκλεισμό της κατιούσας θωρακικής αορτής». Βαθμός: «**Άριστα**»
- 24/11/2003 έως 23/9/2004 : Ειδικευόμενος Καρδιοχειρουργικής (Cardiothoracic Surgery Fellow) στο Νοσοκομείο St. Luke's – Roosevelt, Columbia University College of Physicians and Surgeons, New York, NY, USA.
- 24/9/2004 έως 30/10/2006 : Ειδικευόμενος Θωρακοχειρουργικής στο Γ.Ν.Α «Ο Ευαγγελισμός».
- 1/10/2004 έως 31/8/2005 και : Μέλος ΔΕΠ (Π.Δ. 407/80) με αντιστοιχία στη βαθμίδα του Λέκτορα για διδακτικό έργο στην Καρδιοχειρουργική Κλινική στο Π.Γ.Ν. «ΑΤΤΙΚΟΝ».
- 1/10/2005 έως 31/8/2006 : Ομοίως.
- 11/2005 : Μαθήματα Καρδιοχειρουργικής Επίπεδο 1 της Ευρωπαϊκής Σχολής Καρδιοθωρακοχειρουργικής (Bergamo, Italy).
- 3/2006 : Μαθήματα Καρδιοχειρουργικής Επίπεδο 2 της Ευρωπαϊκής Σχολής Καρδιοθωρακοχειρουργικής (Bergamo, Italy).
- 3/2006: : Μαθήματα εφαρμοσμένων επιστημών της Ευρωπαϊκής Εταιρίας Καρδιοθωρακοχειρουργικής.

- 11/2006 : Μαθήματα Καρδιοχειρουργικής Επίπεδο 3 της Ευρωπαϊκής Σχολής Καρδιοθωρακοχειρουργικής (Bergamo, Italy).
- 31/10/2006 έως 23/11/2007 : Ειδικευόμενος Καρδιοχειρουργικής στο Π.Γ.Ν. «ΑΤΤΙΚΟΝ».
- 24/11/2007 έως 31/7/2008 : Evarts A. Graham Fellow της Αμερικανικής Εταιρίας Χειρουργικής Θώρακος στο Beth Israel Deaconess Medical Center της Ιατρικής Σχολής του Harvard, τμήμα Χειρουργικής, υποτμήμα Καρδιοθωρακοχειρουργικής, υπό την επίβλεψη του Dr. Sidney Levitsky.
- 28/7/2008 : Τίτλος Ιατρικής Ειδικότητας Χειρουργικής Θώρακος.
- 1/9/2008 έως 1/9/2009 : Δόκιμος Έφεδρος Υπαξιωματικός Ιατρός στο 251 ΓΝΑ (Καρδιολογική Κλινική) και στην Υγειονομική Υπηρεσία της 123 ΠΤΕ προς εκπλήρωση της υποχρεωτικής στρατιωτικής θητείας.
- 12/10/2009 έως 11/10/2010 : Επικουρικός Ιατρός Χειρουργικής Θώρακα στην Πανεπιστημιακή Καρδιοχειρουργική Κλινική του Π.Γ.Ν. «ΑΤΤΙΚΟΝ».
- 12/10/2010 έως 11/1/2011 : Επικουρικός Ιατρός Χειρουργικής Θώρακα στην Πανεπιστημιακή Καρδιοχειρουργική Κλινική του Π.Γ.Ν. «ΑΤΤΙΚΟΝ». (τρίμηνη παράταση)
- 31/12/2010 έως σήμερα : Λέκτορας Καρδιοχειρουργικής στην Πανεπιστημιακή Καρδιοχειρουργική Κλινική του Π.Γ.Ν. «ΑΤΤΙΚΟΝ». (ΦΕΚ: 1253/Γ/31-12-10) – Ανάληψη καθηκόντων 25/1/2011).

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ

- 1995-1997: Τμήμα Βιοχημείας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
(Επιβλέπων: Αν. Καθηγ. Δημήτριος Γαλάρης).
- 1998-1999: Τμήμα Καρδιολογίας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.
(Επιβλέποντες: Καθηγητής Δημήτριος Σιδερής, Αν. Καθ. Λάμπρος Μιχάλης).
- 2000-2003: Τμήμα Καρδιοχειρουργικής, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. (Επιβλέπων: Καθηγητής Κωνσταντίνος Αναγνωστόπουλος).
- 4/2002: Ερευνητικό εργαστήριο, Πανεπιστήμιο της Virginia, Charlottesville, VA, Τμήμα θωρακικής και καρδιαγγειακής χειρουργικής (Επιβλέπων: Καθηγητής Irving L. Kron).
- 12/2003: Επιτυχής υποστήριξη Διδακτορικής Διατριβής (βαθμός: Άριστα) στο θέμα «Ο ρόλος του ισχαιμικού Preconditioning στην προστασία του νωτιαίου μυελού μετά από αποκλεισμό της κατιούσας θωρακικής αορτής».
- 1-9/2004: Τμήμα Καρδιοθωρακοχειρουργικής του Columbia University College of Physicians and Surgeons, στο νοσοκομείο St. Luke's – Roosevelt Hospital Center, Νέα Υόρκη, NY, ΗΠΑ
(Επιβλέποντες: Καθηγητής Martin David Tilson and Επικ. Καθηγ. Joseph J. DeRose)
- 2004-2007: Τμήμα Καρδιοχειρουργικής Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών και Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών (Επιβλέπων: Καθηγητής Κωνσταντίνος Αναγνωστόπουλος).
- 2007-2008: Νοσοκομείο Beth Israel Deaconess Medical Center, της Ιατρικής Σχολής του Harvard, Βοστώνη, MA, ΗΠΑ (Επιβλέποντες: Καθηγητής Sidney Levitsky και Αν. Καθηγ. James D. McCully).
- 2009-σήμερα: Καρδιοχειρουργική Κλινική Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών Π.Γ.Ν. «ΑΤΤΙΚΟΝ» και Εργαστήρια Φαρμακευτικής Εταιρίας ΕΛΠΕΝ (Ανεξάρτητος ερευνητής).

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΟΣΤΕΡ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. Rizos IC, Tsoporis J, Salpeas V, Izhar S, **Toumpoulis I**, Parker TG. Cytoprotective role of beta blockers via heat shock protein 70 expression in the human aorta during cardiac surgery. American Heart Association, Scientific Sessions 2012, November 3-7, Los Angeles, CA, USA, 2012.
2. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Chamogeorgakis TP, Angouras DC, Kollias V, Swistel DG, Rokkas CK. What is the optimal choice of grafts in patients with severely impaired left ventricular function? 4th Razavi International Cardiovascular Surgery Congress and the 8th Euro-Asian Bridge Meeting, September 14-16, Mashhad, Iran 2011.
3. **Toumpoulis IK**, Chamogeorgakis TP, Angouras DC, Georgiannakis EN, Kollias VD, Lozos V, Anagnostopoulos CE. Differential expression of collagen type V and XI alpha-1 in human ascending thoracic aortic aneurysms. 5th International Meeting of the Onassis Cardiac Surgery Center – Current Trends in Cardiac Surgery and Cardiology, September 16-18, Athens, Greece 2010.
4. Boone D, Anagnostopoulos CE, Lantis JC, Schwartz GS, Razi SS, Swistel DG, Balaram SK, Belsley SJ, Bhora FY, **Toumpoulis IK**. Carotid artery disease and peripheral vascular disease are both independent predictors of long-term mortality after coronary artery bypass grafting. 2010 Vascular Annual Meeting, June 10-13, Boston, MA, USA, 2010.
5. Boone D, Anagnostopoulos CE, Schwartz GS, Razi SS, Belsley SJ, Bhora FY, Lantis JC, Liapis CD, Rokkas CK, **Toumpoulis IK**. Peripheral vascular disease is an independent predictor of in-hospital complications, prolonged length of stay, and long-term mortality after cardiac surgery. Academic Surgical Congress 5th Annual Conference, February 3-5, San Antonio, TX, USA 2010.
6. **Toumpoulis IK**, Oxford JT, Cowan DB, Anagnostopoulos CE, Rokkas CK, Chamogeorgakis TP, Angouras DC, Shemin RJ, Navab M, Ericsson M, Federman M, Levitsky S, McCully JD. Differential expression of collagen type V and XI α -1 in human ascending thoracic aortic aneurysms. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology Annual Conference 2009, April 29-May 1, Washington DC, USA 2009.
7. **Toumpoulis IK**. Long-term results of aortic dissections. World Society of Cardiothoracic Surgeons, 18th World Congress, April 30-May 3, Kos Island, Greece 2008.
8. **Toumpoulis IK**, Angouras DC, Anagnostopoulos CE, Chamogeorgakis TP, Swistel DG. Is cardiac reoperation an independent predictor for hospital or long-term mortality? World Society of Cardiothoracic Surgeons, 18th World Congress, April 30-May 3, Kos Island, Greece 2008.

9. **Toumpoulis IK**, Angouras DC, Chamogeorgakis TP, Anagnostopoulos CE. The effect of remote early ischemic preconditioning on spinal cord injury after descending thoracic aortic occlusion. World Society of Cardiothoracic Surgeons, 18th World Congress, April 30-May 3, Kos Island, Greece 2008.
10. **Toumpoulis IK**, Mastoraki S, Aroni K, Anagnostopoulos CE, Collin Peter, Chamogeorgakis TP, Rokkas CK, Papalois A, Dimitriou I, Tilson MD. The effect of aneurysm formation on aortic formation in a rabbit experimental model. World Society of Cardiothoracic Surgeons, 18th World Congress, April 30-May 3, Kos Island, Greece 2008.
11. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Chamogeorgakis TP, Angouras DC, Rokkas CK, Swistel DG. Preoperative thrombolysis improves long-term survival after coronary artery bypass grafting: are men different from women? World Society of Cardiothoracic Surgeons, 18th World Congress, April 30-May 3, Kos Island, Greece 2008.
12. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Angouras DC, Chamogeorgakis TP, Rokkas CK, Swistel DG. The impact of malignant ventricular arrhythmias on early and long-term survival following coronary artery bypass grafting. World Society of Cardiothoracic Surgeons, 18th World Congress, April 30-May 3, Kos Island, Greece 2008.
13. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Angouras DC, Chamogeorgakis TP, Swistel DG. The impact of major postoperative complications on in-hospital mortality following coronary artery bypass grafting: are they unexpected or preventable? World Society of Cardiothoracic Surgeons, 18th World Congress, April 30-May 3, Kos Island, Greece 2008.
14. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Angouras DC, Chamogeorgakis TP, Rokkas CK, Swistel DG. Long-term superiority of two or more arterial grafts in patients with multivessel coronary artery bypass grafting. World Society of Cardiothoracic Surgeons, 18th World Congress, April 30-May 3, Kos Island, Greece 2008.
15. Anagnostopoulos CE, Swistel DG, Angouras DC, Chamogeorgakis TP, **Toumpoulis IK**. Is there a long-term survival benefit in coronary artery bypass grafting because of blood cardioplegia or microscope use in a 16-year follow-up study? World Society of Cardiothoracic Surgeons, 18th World Congress, April 30-May 3, Kos Island, Greece 2008.
16. Mastoraki S, Anagnostopoulos CE, Chamogeorgakis TP, Rokkas CK, Aroni K, Papalois A, Mastoraki A, Dimitriou I, Tilson MD, **Toumpoulis IK**. The effect of simvastatin on aneurysm formation in a rabbit experimental model. World Society of Cardiothoracic Surgeons, 18th World Congress, April 30-May 3, Kos Island, Greece 2008.

17. Chamogeorgakis TP, Anagnostopoulos CE, Bhora FY, **Toumpoulis IK**, Nabong A, Kostopanagiotou G, Dosios T, Harrison LB, Polychronopoulos G, Connery CP. Does preoperative anemia affect outcome after lobectomy or pneumonectomy in early stage lung cancer patients who have not received neoadjuvant treatment? Chest 2007 Congress, October 20-25, Chicago, IL, USA 2007.
18. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Chamogeorgakis T, Rokkas CK, DeRose JJ, Swistel DG. Risk factors for stroke and long-term survival after coronary artery bypass grafting. International Stroke Conference 2007, February 7-9, San Francisco, CA, USA 2007.
19. Anagnostopoulos CE, DeRose JJ, Rokkas CK, Chamogeorgakis T, Swistel DG, **Toumpoulis IK**. The calcified aorta revisited: a 13-year experience. 16th World Congress of the World Society of Cardio-Thoracic Surgeons, August 17-20, Ottawa, Ontario, Canada 2006.
20. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Swistel DG, Chamogeorgakis T, Connery CP, DeRose JJ. Does reexploration for bleeding affect long-term mortality after coronary artery bypass grafting? 16th World Congress of the World Society of Cardio-Thoracic Surgeons, August 17-20, Ottawa, Ontario, Canada 2006.
21. **Toumpoulis IK**. Risk stratification in aneurysm and dissection of the aorta. Grand Rounds: Richard L. McCann, MD the Visiting Professor Program at the Department of Orthopaedic Surgery and the Division of Vascular Surgery, Department of Surgery, of the University of Athens, School of Medicine, June 13, Athens, Greece 2006.
22. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Rokkas CK, Chamogeorgakis T, Swiste DG, DeRose JJ. CAB or OPCAB? Common and unique independent predictors affect midterm survival differently in patients with on-pump and off-pump coronary artery bypass. International Society for Minimally Invasive Cardiothoracic Surgery, Annual Scientific Meeting, June 7-10, San Francisco, CA, USA 2006.
23. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Chamogeorgakis T, Swistel DG, DeRose JJ. Independent predictors for early and long-term mortality after heart valve surgery. 7th Scientific Forum on Quality of Care and Outcomes Research in Cardiovascular Disease and Stroke, May 6-8, Washington, DC, USA 2006.
24. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Chamogeorgakis T, Swistel DG, DeRose JJ. The impact of left ventricular hypertrophy on early and long-term survival following coronary artery bypass grafting. 7th Scientific Forum on Quality of Care and Outcomes Research in Cardiovascular Disease and Stroke, May 6-8, Washington, DC, USA 2006.

25. Ro CY, Ryan SW, Sagalovich D, **Toumpoulis IK**, Tilson MD. Heterozygosity for two single nucleotide polymorphisms in ferritin light chain of nineteen patients with abdominal aortic aneurysms. 2006 Academic Surgical Congress, February 7-10, San Diego, CA, USA 2006.
26. Papathanasiou A, **Toumpoulis I**, Pappas K, Leontaridis I, Katsouras C, Mihalidis L, Kalantzi K, Goudevenos J. Statins reduce total and cardiovascular mortality in patients that underwent coronary artery bypass grafting surgery (CABG) despite their hypolipidemic effect. European Society of Cardiology Congress 2005, September 3-7, Stockholm, Sweden 2005.
27. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Balaram SK, Rokkas CK, Swistel DG, Ashton RC, DeRose JJ. Assessment of independent predictors for long-term mortality between women and men following coronary artery bypass grafting: are women different than men? Western Thoracic Surgical Association 31st Annual Meeting, June 22-25, Victoria, British Columbia, Canada 2005.
28. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, DeRose JJ, Swistel DG. Risk factors for sepsis and endocarditis and long-term survival following cardiac surgery. 6th Scientific Forum on Quality of Care and Outcomes Research in Cardiovascular Disease and Stroke, May 14-16, Washington, DC, USA 2005.
29. **Toumpoulis IK**, Ioannidis JP, Toumpoulis SK, DeRose JJ, Swistel DG, Anagnostopoulos CE. Does EuroSCORE predict long-term mortality after cardiac surgery? 6th Scientific Forum on Quality of Care and Outcomes Research in Cardiovascular Disease and Stroke, May 14-16, Washington, DC, USA 2005.
30. **Toumpoulis IK**, DeRose JJ, Swistel DG, Anagnostopoulos CE. The impact of chronic obstructive pulmonary disease on long-term survival following coronary artery bypass grafting. 9th State-of-the-Art Interdisciplinary Review Course on Pulmonary Diseases Critical Care Emergency Medicine & Nursing Care, April 22-24, Athens, Greece 2005.
31. Ro CY, McGinty JJ, DeRose JJ, **Toumpoulis IK**, Imielinska C, Jebara T, Shin SH, Chughtai HL, Todd GJ, Ashton RC. A novel drill set allows assessment of robotic surgical performance. SAGES 2005 Annual Meeting, April 13-16, Ft. Lauderdale, FL, USA 2005.
32. Balaram SK, **Toumpoulis IK**, DeRose JJ, Swistel DG. Results of bilateral internal thoracic artery grafting in women. 2nd International Conference on Women, Heart Disease, and Stroke, February 16-19, Orlando, FL, USA 2005.
33. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE. Superiority of early relative to late ischemic preconditioning in spinal cord protection. The 4th Athens Exchange of Cardiovascular Research Ideas. February 3-5, Athens, Greece 2005.

34. Ro CY, **Toumpoulis IK**, Imielinska C, Jebara T, Shin SH, Zipkin JD, McGinty JJ, Todd GJ, DeRose JJ. A novel drill set for the enhancement and assessment for robotic surgical performance. Medicine Meets Virtual Reality 13th CME Conference, January 26-29, Long Beach, CA, USA 2005.
35. Ro CY, **Toumpoulis IK**, Ashton RC, Jebara T, Schulman C, Todd GJ, DeRose JJ, McGinty JJ. The LapSim: A learning environment for both experts and novices. Medicine Meets Virtual Reality 13th CME Conference, January 26-29, Long Beach, CA, USA 2005.
36. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Balaram S, Swistel DG, Ashton RC, DeRose JJ. Does bilateral internal thoracic artery grafting increase long-term survival in diabetic patients? 41st Annual Meeting of the Society of Thoracic Surgeons, January 24-26, Tampa, FL, USA 2005.
37. Tilson MD, Toset AW, Best VA, **Toumpoulis IK**, Witkinm JW, Gaetz HP, Todd GJ. Expression of molecular markers for vasculogenesis and angiogenesis in the 3-day embryonic chicken. 2nd National Meeting of the American Society for Matrix Biology, November 10-13, San Diego, CA, USA 2004.
38. Toset A, **Toumpoulis I**, Collin P, Giangola G, Todd G, Tilson D. A comparison of two commercial inhibitors of aneurysm MMP-2 activity in vitro. 2004 Annual Meeting of the Association for Academic Surgery, November 11-13, Houston, TX, USA 2004.
39. **Toumpoulis I**, Ewing D, Maree M, Marboe C, Ashton R, DeRose J, Tilson D. Findings of inflammation and possible autoimmunity in calcific aortic stenosis of unknown etiology in the geriatric population. 2004 Annual Meeting of the Association for Academic Surgery, November 11-13, Houston, TX, USA 2004.
40. **Toumpoulis IK**, DeRose JJ, Balaram S, Ioannidis JP, Belsley S, Ashton RC, Swistel DG, Anagnostopoulos CE. Preoperative prediction of long-term survival following coronary artery bypass grafting in patients with low left ventricular ejection fraction: the HAVOC score. American Heart Association, Scientific Sessions 2004, November 7-10, New Orleans, LA, USA 2004.
41. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Katritsis DG, DeRose JJ, Swistel DG. Preoperative thrombolysis improves long-term survival after coronary artery bypass grafting. American Heart Association, Scientific Sessions 2004, November 7-10, New Orleans, LA, USA 2004.
42. **Toumpoulis I**, Kancherla S, McGinnis K, Withers L, Connery CP, Jebara T, Ashton RC. Novel method of individual cancer risk prediction analysis for intermediate pulmonary nodules. Chest 2004 Congress, October 23-28, Seattle, WA, USA 2004.
43. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Ashton RC, Connery CP, DeRose JJ, Swistel DG. Risk factors for respiratory failure and long-term survival following

coronary artery bypass grafting. Chest 2004 Congress, October 23-28, Seattle, WA, USA 2004.

44. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Ashton RC, Connery CP, DeRose JJ, Swistel DG. The impact of chronic obstructive pulmonary disease on long-term survival following coronary artery bypass grafting. Chest 2004 Congress, October 23-28, Seattle, WA, USA 2004.
45. Papathanasiou A, **Toumpoulis I**, Leontaridis I, Pappas K, Katsouras CS, Michalis LK, Kolletis T, Goudevenos JA. Smoking cessation reduces mortality after coronary artery bypass surgery. European Society of Cardiology Congress 2004, August 28 – September 1, Munich, Germany 2004.
46. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, DeRose JJ, Swistel DG. Effect of gastrointestinal complications on long-term survival after coronary artery bypass grafting. European Society of Cardiology Congress 2004, August 28 – September 1, Munich, Germany 2004.
47. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, DeRose JJ, Swistel DG. The impact of diabetes mellitus on long-term survival after coronary artery bypass grafting. European Society of Cardiology Congress 2004, August 28 – September 1, Munich, Germany 2004.
48. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, DeRose JJ, Swistel DG. Early and midterm outcome after off-pump coronary artery bypass grafting in patients with left ventricular dysfunction. ISMICS 7th Annual Meeting, June 23-26, London, United Kingdom 2004.
49. **Toumpoulis IK**, Gefen J, Ewing DR, Toset AW, Todd GJ, Tilson MD, III. Genomic origin of Mat-CAM-1 and insufficiency of molecular mimicry as an explanation for the association of HIV infection with aneurysmal diseases. Society for Vascular Medicine and Biology, 15th Annual Scientific Sessions, June 4-5, Anaheim, CA, USA 2004.
50. **Toumpoulis IK**, Papakostas JC, Matsagas MI, Malamou-Mitsi VD, Pappa LS, Anagnostopoulos CE. Early ischemic preconditioning is superior to late ischemic preconditioning in spinal cord protection after descending thoracic aortic occlusion. AATS 84th Annual Meeting, April 25-28, Toronto, Ontario, Canada 2004.
51. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, DeRose JJ, Swistel DG. Risk factors for sepsis or endocarditis and long-term survival following coronary artery bypass grafting. 26th World Congress of the International Society for Cardiovascular Surgery, March 21-25, Maui, Hawaii 2004.
52. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, DeRose JJ, Swistel DG. The impact of deep sternal wound infection on long-term survival after coronary artery bypass

grafting. American College of Cardiology Annual Meeting, March 7-10, New Orleans, LA, USA 2004.

53. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, DeRose JJ, Swistel DG. EuroSCORE predicts long-term survival in patients with CABG. 2nd EACTS/ESTS Joint Meeting, October 12-15, Vienna, Austria 2003.
54. DeRose JJ, **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Belsley SJ, Ashton RC, Hillel Z, Shaw R, Swistel DG. Long-term survival following coronary artery bypass grafting for ischemic cardiomyopathy. European Society of Cardiology Congress 2003, August 30 – September 3, Vienna, Austria 2003.
55. Anagnostopoulos CE, **Toumpoulis IK**, Swistel DG, DeRose JJ. What is “best practice in patients undergoing coronary artery bypass grafting? Perceived early advantages may not constitute late superiority. European Society of Cardiology Congress 2003, August 30 – September 3, Vienna, Austria 2003.
56. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Shennib H, DeRose JJ, Swistel DG. Influence of innovative techniques on mid-term results in patients with OPCAB and MIDCAB surgery. ISMICS 6th Annual Meeting, June 19-21, San Francisco, CA, USA 2003.
57. Anagnostopoulos CE, **Toumpoulis IK**, DeRose JJ, Siminelakis SN, Katritsis DG. What is the mortality and recuperative difference of bilateral versus single thoracic artery coronary revascularization in patients with reoperation or over 80 years of age? 3rd International Meeting, 10th Anniversary of the Onassis Cardiac Surgery Center, April 10-13, Athens, Greece 2003.
58. Anagnostopoulos CE, **Toumpoulis IK**, Swistel DG, DeRose JJ, Ioannidis JPA. Late superiority of double artery coronary revascularization. 3rd International Meeting, 10th Anniversary of the Onassis Cardiac Surgery Center, April 10-13, Athens, Greece 2003.
59. **Toumpoulis IK**, Connery C, Siminelakis S, Anagnostopoulos C. How to demonstrate superiority of mitral valve repair over replacement: five to ten-year results with isolated and combined operations. 3rd International Meeting, 10th Anniversary of the Onassis Cardiac Surgery Center, April 10-13, Athens, Greece 2003.
60. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Shennib H, DeRose JJ, Swistel DG. Influence of innovative techniques on mid-term results in off-pump coronary artery bypass. Cardiothoracic Technologies and Techniques, 9th Annual Meeting, March 19-22, Miami, FL, USA 2003.
61. Anagnostopoulos PV, **Toumpoulis IK**, Drossos GE, Shepard AD, Tsatsoulis A, Katritsis DG, Anagnostopoulos CE. Temporary adrenal dysfunction with descending thoracic aortic occlusion. 14th Annual Meeting of Mediterranean

Association of Cardiology and Cardiac Surgery, October 9-12, Rhodes, Greece 2002.

62. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Drossos GE, Malamou-Mitsi VD, Pappa LS, Katritsis DG. Early ischemic preconditioning prevents spinal cord injury due to descending thoracic aortic occlusion. 14th Annual Meeting of Mediterranean Association of Cardiology and Cardiac Surgery, October 9-12, Rhodes, Greece 2002.
63. Anagnostopoulos CE, **Toumpoulis IK**, Siminelakis SN, Katritsis DG, Ioannidis JP, Connery CP, Swistel DG. What is the mortality and recuperative difference of bilateral versus single thoracic artery coronary revascularization in patients with reoperation or over 80 years of age? 14th Annual Meeting of Mediterranean Association of Cardiology and Cardiac Surgery, October 9-12, Rhodes, Greece 2002.
64. Anagnostopoulos CE, **Toumpoulis IK**, Connery CP, Safavi A, Anagnostopoulos AM, Katritsis DG, Drossos GE. Does EuroSCORE risk stratification predict length of stay and mortality in thoracic aortic dissections and aneurysms better than STS or NYS? 14th Annual Meeting of Mediterranean Association of Cardiology and Cardiac Surgery, October 9-12, Rhodes, Greece 2002.
65. **Toumpoulis IK**, Drossos GE, Malamou-Mitsi V, Katritsis DG, Anagnostopoulos CE. Early preconditioning without hypotension prevents spinal cord injury due to descending aortic occlusion. American Association for Thoracic Surgery, 82nd Annual Meeting, May 5-8, Washington, DC, USA 2002.
66. **Toumpoulis IK**, Drossos GE, Malamou-Mitsi VD, Pappa LS, Katritsis DG, Anagnostopoulos CE. Does ischemic preconditioning reduce spinal cord injury due to descending thoracic aortic occlusion? 2002 Joan L. & Julius H. Jacobson Research Initiatives in Vascular Disease Conference. From Bench to Clinical Practice – Translational Research in Vascular Disease. Lifeline Foundation sponsored by the American Association for Vascular Surgery and the Society for Vascular Surgery. April 18-19, Bethesda, MD, USA 2002.
67. Drossos GE, **Toumpoulis IK**, Katritsis DG, Ioannidis JP, Kontogiorgi P, Svarna E, Siminelakis S, Anagnostopoulos CE. Is vitamin C superior to diltiazem for radial artery vasodilation in patients awaiting coronary artery bypass grafting? a randomized double blind study. American College of Cardiology, 51st Annual Scientific Session, March 17-20, Atlanta, GA, USA 2002.
68. G. Drosos, **I. Toumpoulis**, N. Bonaros, E. Svarna, S. Siminelakis, O. Galanos, S. Fragoudaki, J. Ioannidis, C. Anagnostopoulos. Does vitamin C and diltiazem differ in radial vasodilation among coronary patients? 2nd International Meeting of the Onassis Cardiac Surgery Center «Fighting Heart Disease on the Threshold of the 3rd Millennium», December 7-9, Athens, Greece 2000.

69. J. Kalef-Ezra, L. K. Michalis, V. Malamou-Mitsi, P. Tsekeris, G. Gloutsianou, C. Katsouras, D. Vardakas, **I. Toumpoulis**, A. Boziari, D. Sideris. Effects of External beam irradiation on vessel remodeling and neointimal hyperplasia after balloon angioplasty in hypercholesterolemic rabbits: the dose and time effect. Athens 2000: Interventional Cardiovascular Therapeutics, May 27-28, Athens, Greece 2000.
70. J. Kalef-Ezra, L. K. Michalis, V. Malamou-Mitsi, P. Tsekeris, G. Gloutsianou, C. Katsouras, D. Vardakas, A. Boziari, **J. Toumpoulis**, D. Sideris. External beam irradiation following balloon angioplasty in a atherosclerotic rabbit model: the dose effect. Cardiovascular Radiation Therapy IV, February 16-18, Washington, D.C., USA 2000.
71. D. Galaris, S. Kokkoris, **I. Toumpoulis** and P. Korantzopoulos. Metmyoglobin catalyzed reduction of hydrogen peroxide by ascorbate. NATO Advanced Study Institute «Free Radicals, Oxidative Stress and Antioxidants. Pathological and Physiological Significance». May 24 - June 4, Antalya, Turkey, pp.29-30, 1997.
72. D. Galaris, S. Kokkoris and **I. Toumpoulis**. Generation of reactive species during the oxidation of metmyoglobin by hydrogen peroxide. VIII Biennial Meeting. International Society for Free Radical Research. October 1-5, Barcelona, Spain, pp.156-157, 1996.
73. **I. Toumpoulis**, S. Kokkoris, P. Korantzopoulos and D. Galaris. Interaction of Myoglobin with Peroxides: A potential protective mechanism in cases of oxidative stress in muscle. 2nd European Medical Students' Symposium, May 4-5, Thessaloniki, Greece 1996.

ΑΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΚΡΙΣΗ

1. Rizos IC, Tsoporis J, Salpeas V, Izhar S, **Toumpoulis I**, Parker TG. Cytoprotective role of beta blockers via heat shock protein 70 expression in the human aorta during cardiac surgery. *Circulation*, 2012;126:A14432.
2. Boone D, Anagnostopoulos CE, Lantis JC, Schwartz GS, Razi SS, Swistel DG, Balaram SK, Belsley SJ, Bhora FY, **Toumpoulis IK**. Carotid artery disease and peripheral vascular disease are both independent predictors of long-term mortality after coronary artery bypass grafting. *Journal of vascular surgery*, 2010;51(6 Suppl):54S.
3. Boone D, Anagnostopoulos CE, Schwartz GS, Razi SS, Belsley SJ, Bhora FY, Lantis JC, Liapis CD, Rokkas CK, **Toumpoulis IK**. Peripheral vascular disease is an independent predictor of in-hospital complications, prolonged length of stay, and long-term mortality after cardiac surgery. *Journal of surgical research*, 2010;158:226.
4. **Toumpoulis IK**, Oxford JT, Cowan DB, Anagnostopoulos CE, Rokkas CK, Chamogeorgakis TP, Angouras DC, Shemin RJ, Navab M, Ericsson M, Federman M, Levitsky S, McCully JD. Differential expression of collagen type V and XI α -1 in human ascending thoracic aortic aneurysms. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 2009;29:e119.
5. Chamogeorgakis TP, Anagnostopoulos CE, Bhora FY, **Toumpoulis IK**, Nabong A, Kostopanagiotou G, Dosios T, Harrison LB, Polychronopoulos G, Connery CP. Does preoperative anemia affect outcome after lobectomy or pneumonectomy in early stage lung cancer patients who have not received neoadjuvant treatment? *Chest*, 2007;132:654S.
6. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Chamogeorgakis T, Rokkas CK, DeRose JJ, Swistel DG. Risk factors for stroke and long-term survival after coronary artery bypass grafting. *Stroke*, 2007;38:480.
7. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Chamogeorgakis T, Swistel DG, DeRose JJ. Independent predictors for early and long-term mortality after heart valve surgery. *Circulation*, 2006;113:e793-e794.
8. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Chamogeorgakis T, Swistel DG, DeRose JJ. The impact of left ventricular hypertrophy on early and long-term survival following coronary artery bypass grafting. *Circulation*, 2006;113:e816.

9. Ro CY, Ryan SW, Sagalovich D, **Toumpoulis IK**, Tilson MD. Heterozygosity for two single nucleotide polymorphisms in ferritin light chain of nineteen patients with abdominal aortic aneurysms. *Journal of Surgical Research*, 2006;130:315.
10. Papathanasiou A, **Toumpoulis I**, Pappas K, Leontaridis I, Katsouras C, Mihalidis L, Kalantzi K, Goudevenos J. Statins reduce total and cardiovascular mortality in patients that underwent coronary artery bypass grafting surgery (CABG) despite their hypolipidemic effect. *European Heart Journal Supplement*, 2005.
11. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, DeRose JJ, Swistel DG. Risk factors for sepsis and endocarditis and long-term survival following cardiac surgery. *Circulation*, 2005;111:e315-e316.
12. **Toumpoulis IK**, Ioannidis JP, Toumpoulis SK, DeRose JJ, Swistel DG, Anagnostopoulos CE. Does EuroSCORE predict long-term mortality after cardiac surgery? *Circulation*, 2005;111:e315.
13. Balaram SK, **Toumpoulis IK**, DeRose JJ, Swistel DG. Results of bilateral internal thoracic artery grafting in women. *Circulation*, 2005;111:e56.
14. Toset A, **Toumpoulis I**, Collin P, Giangola G, Todd G, Tilson D. A comparison of two commercial inhibitors of aneurysm MMP-2 activity in vitro. *Journal of Surgical Research*, 2004;121:323.
15. **Toumpoulis I**, Ewing D, Maree M, Marboe C, Ashton R, DeRose J, Tilson D. Findings of inflammation and possible autoimmunity in calcific aortic stenosis of unknown etiology in the geriatric population. *Journal of Surgical Research*, 2004;121:326.
16. **Toumpoulis IK**, DeRose JJ, Balaram S, Ioannidis JP, Belsley S, Ashton RC, Swistel DG, Anagnostopoulos CE. Preoperative prediction of long-term survival following coronary artery bypass grafting in patients with low left ventricular ejection fraction: the HAVOC score. *Circulation Supplement*, 2004;110:III421.
17. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Katritsis DG, DeRose JJ, Swistel DG. Preoperative thrombolysis improves long-term survival after coronary artery bypass grafting. *Circulation Supplement*, 2004;110:III706.
18. **Toumpoulis I**, Kancherla S, McGinnis K, Withers L, Connery CP, Jebara T, Ashton RC. Novel method of individual cancer risk prediction analysis for intermediate pulmonary nodules. *Chest Supplement*, 2004;126:748S.

19. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Ashton RC, Connery CP, DeRose JJ, Swistel DG. Risk factors for respiratory failure and long-term survival following coronary artery bypass grafting. *Chest Supplement*, 2004;126:855S-856S.
20. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Ashton RC, Connery CP, DeRose JJ, Swistel DG. The impact of chronic obstructive pulmonary disease on long-term survival following coronary artery bypass grafting. *Chest Supplement*, 2004;126:733S-734S.
21. Papathanasiou A, **Toumpoulis I**, Leontaridis I, Pappas K, Katsouras CS, Michalis LK, Kolletis T, Goudevenos JA. Smoking cessation reduces mortality after coronary artery bypass surgery. *European Heart Journal Supplement*, 2004;25:365.
22. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, DeRose JJ, Swistel DG. Effect of gastrointestinal complications on long-term survival after coronary artery bypass grafting. *European Heart Journal Supplement*, 2004;25:620.
23. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, DeRose JJ, Swistel DG. The impact of diabetes mellitus on long-term survival after coronary artery bypass grafting. *European Heart Journal Supplement*, 2004;25:509.
24. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, DeRose JJ, Swistel DG. Risk factors for sepsis or endocarditis and long-term survival following coronary artery bypass grafting. *Vascular* 2004;12(Suppl 1):58.
25. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, DeRose JJ, Swistel DG. The impact of deep sternal wound infection on long-term survival after coronary artery bypass grafting. *Journal of the American College of Cardiology*, 2004;43(Suppl A):298.
26. DeRose JJ, **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Belsley SJ, Ashton RC, Hillel Z, Shaw R, Swistel DG. Long-term survival following coronary artery bypass grafting for ischemic cardiomyopathy. *European Heart Journal Supplement*, 2003;24:640.
27. Anagnostopoulos CE, **Toumpoulis IK**, Swistel DG, DeRose JJ. What is best practice in patients undergoing coronary artery bypass grafting? Perceived early advantages may not constitute late superiority. *European Heart Journal Supplement*, 2003;24:644.
28. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Shennib H, DeRose JJ, Swistel DG. Influence of innovative techniques on mid-term results in patients with OPCAB and MIDCAB surgery. *Heart Surgery Forum*, 2003;6 Supp 1:S43.

29. Drossos GE, **Toumpoulis IK**, Katritsis DG, Ioannidis JP, Kontogiorgi P, Svarna E, Siminelakis S, Anagnostopoulos CE. Is Vitamin C Superior to Diltiazem for Radial Artery Vasodilation in Patients Awaiting Coronary Artery Bypass Grafting? A Randomized Double Blind Study. *Journal of the American College of Cardiology*, 2002;39(Suppl A):298A.
30. J. Kalef-Ezra, L. K. Michalis, V. Malamou-Mitsi, P. Tsekeris, G. Gloutsianou, C. Katsouras, D. Vardakas, **I. Toumpoulis**, A. Boziari, D. Sideris. Effects of External Beam Irradiation on Vessel Remodeling and Neointimal Hyperplasia After Balloon Angioplasty in Hypercholesterolemic Rabbits: The Dose and Time Effect. *The Journal of Invasive Cardiology*, May 2000;12(5):249.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΠΡΩΤΟΤΥΠΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ
ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΚΡΙΣΗ

1. Moutsatsou P, Tsoporis JN, Salpeas V, Bei E, Alevizos B, Anagnostara C, Izhar S, Proteau G, Rizos E, Hatziagelaki E, **Toumpoulis IK**, Rizos IK, Parker TG. Peripheral blood lymphocytes from patients with bipolar disorder demonstrate apoptosis and differential regulation of advanced glycation end products and S100B. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 2014 (in press – Epub ahead of print).
2. Black KM, Masuzawa A, Hagberg RC, Khabbaz KR, Trovato ME, Rettagliati VM, Bhasin MK, Dillon ST, Libermann TA, **Toumpoulis IK**, Levitsky S, McCully JD. Preliminary biomarkers for identification of human ascending thoracic aortic aneurysm. *Journal of the American Heart Association*, 2013;2:e000138.
3. Triantafyllis AS, Kalogeropoulos AS, Rigopoulos AG, Sakadakis EA, **Toumpoulis IK**, Tsikrikas S, Kremastinos DT, Rizos I. Coronary artery ectasia and inflammatory cytokines: Link with a predominant Th-2 immune response? *Cytokine*, 2013;64:427-432.
4. Chamogeorgakis T, Bhora F, **Toumpoulis I**, Nabong A, Connery C. Postoperative course on midterm outcome after esophageal resection for cancer. *Baylor University Medical Center Proceedings*, 2013;26:239-242.
5. Lozos VA, **Toumpoulis IK**, Agrogiannis G, Giamarellos-Bourboulis EJ, Chamogeorgakis TP, Rizos IK, Patsouris ES, Anagnostopoulos CE, Rokkas CK. Aprikalim a potassium adenosine triphosphate channel opener reduces neurologic injury in a rabbit model of spinal cord ischemia. *International Journal of Surgery*, 2013;11:354-359.
6. Mastoraki ST, **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Tiniakos D, Papalois A, Chamogeorgakis TP, Angouras DC, Rokkas CK. Treatment with simvastatin inhibits the formation of abdominal aortic aneurysms in rabbits. *Annals of Vascular Surgery*, 2012;26:250-258.
7. Stogiannis D, Caroni C, Anagnostopoulos CE, **Toumpoulis IK**. Comparing first hitting time and proportional hazards regression models. *Journal of Applied Statistics*, 2011;38:1483-1492.
8. Angouras DC, Anagnostopoulos CE, Chamogeorgakis TP, Rokkas CK, Swistel DG, Connery CP, **Toumpoulis IK**. Postoperative and long-term outcome of patients with chronic obstructive pulmonary disease undergoing coronary artery bypass grafting. *The Annals of Thoracic Surgery*, 2010;89:1112-1118.

9. Chamogeorgakis TP, Anagnostopoulos CE, Kostopanagiotou G, Angouras DC, **Toumpoulis IK**, Matiatou S, Georgiannakis MC, Mallios D, Rokkas CK. Does hypothermic circulatory arrest or prolonged cardiopulmonary bypass time affect early outcome in reoperative aortic surgery? *Journal of Cardiovascular Surgery (Torino)*, 2010;51:423-428.
10. **Toumpoulis IK**, Oxford JT, Cowan DB, Anagnostopoulos CE, Rokkas CK, Chamogeorgakis TP, Angouras DC, Shemin RJ, Navab M, Ericsson M, Federman M, Levitsky S, McCully JD. Differential expression of collagen type V and XI alpha-1 in human ascending thoracic aortic aneurysms. *The Annals of Thoracic Surgery*, 2009;88:506-513.
11. **Toumpoulis IK**, Chamogeorgakis TP, Angouras DC, Swistel DG, Anagnostopoulos CE. The impact of left ventricular hypertrophy on early and long-term survival after coronary artery bypass grafting. *International Journal of Cardiology*, 2009;135:36-42.
12. Chamogeorgakis T, **Toumpoulis I**, Tomos P, Ieromonachos C, Angouras D, Georgiannakis E, Michail P, Rokkas C. External validation of the modified Thoracscore in a new thoracic surgery program: prediction of in-hospital mortality. *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery*, 2009;9:463-466.
13. McCully JD, Cowan DB, Pacak CA, **Toumpoulis IK**, Dayalan H, Levitsky S. Injection of isolated mitochondria during early reperfusion for cardioprotection. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*, 2009;296:H94-H105.
14. Kastellanos SS, **Toumpoulis IK**, Aggeli C, Zezas S, Chlapoutakis E, Kastellanos S, Stefanadis CI. The role of sex and biochemical markers of inflammation in left ventricular remodelling before and after surgery in elderly patients with aortic valve stenosis. *Hellenic Journal of Cardiology*, 2009;50:26-36.
15. Chamogeorgakis T, Angouras D, **Toumpoulis I**, Niki N, Lozos V, Xenikakis T, Anagnostopoulos C, Rokkas CK. Reoperative repair of the aortic root and the aortic arch following previous surgery for acute type A aortic dissection. *Chirurgia*, 2009;22:171-175.
16. Papathanasiou A, **Toumpoulis IK**, Millionis HJ, Kalantzi K, Katsouras CS, Goudevenos J. Statin therapy is associated with reduced total and cardiovascular mortality after coronary artery bypass grafting surgery. *Coronary Artery Disease*, 2008;19:619-625.
17. **Toumpoulis IK**, Chamogeorgakis TP, Angouras DC, Swistel DG, Anagnostopoulos CE, Rokkas CK. Independent predictors for early and long-term mortality after heart valve surgery. *The Journal of Heart Valve Disease*, 2008;17:548-556.
18. **Toumpoulis IK**, Rokkas CK, Chamogeorgakis TP. The future of risk stratification in thoracic surgery. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2008;136:7-9.

19. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Chamogeorgakis TP, Angouras DC, Kariou MA, Swistel DG. Impact of early and delayed stroke on in-hospital and long-term mortality after isolated coronary artery bypass grafting. *American Journal of Cardiology*, 2008;102:411-417.
20. Chamogeorgakis T, Anagnostopoulos C, Kostopanagiotou G, Bhora F, **Toumpoulis I**, Georgiannakis E, Nabong A, Dosios T, Harrison L, Connery C. Does anemia affect outcome after lobectomy in early stage lung cancer patients who have not received neo-adjuvant treatment? *The Thoracic and Cardiovascular Surgeon*, 2008;56:148-153.
21. Chamogeorgakis TP, Kostopanagiotou G, Kalimeris C, Kabouroglou G, Kourtesis A, Routsis C, Dima C, **Toumpoulis IK**. Effect of N-acetyl-L-cysteine on lung ischaemia reperfusion injury in a porcine experimental model. *ANZ Journal of Surgery*, 2008;78:72-77.
22. **Toumpoulis IK**, Theakos N, Dunning J. Does bilateral internal thoracic artery harvest increase the risk of mediastinitis? *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery*, 2007;6:787-791.
23. Lysitsas DN, Katsouras CS, Papakostas JC, **Toumpoulis IK**, Angelidis C, Bozidis P, Thomas CG, Seferiadis K, Psychoyios N, Frillingos S, Pavlidis N, Marinos E, Khaldi L, Sideris DA, Michalis LK. Antirestenotic effects of a novel polymer-coated D-24851 eluting stent. Experimental data in a rabbit iliac artery model. *Cardiovascular and Interventional Radiology*, 2007;30:1192-1200.
24. Chamogeorgakis TP, Connery CP, Bhora F, Nabong A, **Toumpoulis IK**. Thoracoscore predicts midterm mortality in patients undergoing thoracic surgery. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2007;134:883-887.
25. Chamogeorgakis T, Anagnostopoulos CE, Connery CP, Ashton RC, Dosios T, Kostopanagiotou G, Rokkas CK, **Toumpoulis IK**. Independent predictors for early and midterm mortality after thoracic surgery. *Thoracic and Cardiovascular Surgeon*, 2007;55:380-384.
26. Anagnostopoulos PV, **Toumpoulis IK**, Shepard AD, Drossos GE, Tsatsoulis A, Anagnostopoulos CE. Temporary adrenal dysfunction with descending thoracic aortic occlusion. *Scandinavian Cardiovascular Journal*, 2007;41:248-254.
27. **Toumpoulis IK**, Malamou-Mitsi VD, Michalis LK, Katsouras C, Gloustianou G, Galaris D, Bai M, Vardakas D, Agnantis NJ, Sideris DA. Apoptosis bcl-2 and nitrotyrosine expression in an angioplasty-restenosis rabbit: an experimental model. *International Journal of Surgery*, 2007;5:260-266.
28. Papathanasiou A, Milionis H, **Toumpoulis IK**, Kalantzi K, Katsouras C, Pappas K, Michalis LK, Goudevenos J. Smoking cessation reduces long-term mortality and the need of repeat interventions after coronary artery bypass grafting. *European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation*, 2007;14:448-450.

29. Papakostas JC, **Toumpoulis IK**, Pappa LS, Arnaoutoglou HM, Kirou IE, Malamou-Mitsi VD, Kappas AM, Matsagas MI. Pancreatic injury after thoracoabdominal aortic occlusion in a porcine model. *ANZ Journal of Surgery*, 2007;77:474-479.
30. Kastellanos SS, **Toumpoulis IK**, Aggeli C, Zezas S, Chlapoutakis E, Kastellanos S, Stefanadis CI. Time course of C-reactive protein, tumour necrosis factor-alpha and monocyte chemoattractant protein-1 following the surgical treatment of patients with aortic valve stenosis. *Hellenic Journal of Cardiology*, 2007;48:5-14.
31. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Ioannidis JP, Toumpoulis SK, Chamogeorgakis T, Swistel DG, DeRose JJ. The importance of independent risk-factors for long-term mortality prediction after cardiac surgery. *European Journal of Clinical Investigation*, 2006;36:599-607.
32. Matsagas MI, **Toumpoulis IK**, Drossos GE, Bali C, Papadopoulos G, Anagnostopoulos CE, Kappas A. Bilateral one-stage carotid endarterectomy combined with aortic valve replacement: a case report. *Chirurgia*, 2006;19:267-268.
33. Matsagas MI, Anagnostopoulos CE, Papakostas JC, DeRose JJ, Siminelakis S, Katsouras CS, **Toumpoulis IK**, Drossos GE, Michalis LK. Endovascular stent-graft repair as a late secondary procedure after previous aortic grafts. *Cardiovascular and Interventional Radiology*, 2006;29:655-658.
34. Papakostas JC, Matsagas MI, **Toumpoulis IK**, Malamou-Mitsi VD, Pappa LS, Gkrepi C, Anagnostopoulos CE, Kappas AM. Evolution of spinal cord injury in a porcine model of prolonged aortic occlusion. *Journal of Surgical Research*, 2006;133:159-166.
35. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Balaram SK, Rokkas CK, Swistel DG, Ashton RC, DeRose JJ. Assessment of independent predictors for long-term mortality between women and men following coronary artery bypass grafting: Are women different than men? *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2006;131:343-351.
36. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Balaram S, Swistel DG, Ashton RC, DeRose JJ. Does bilateral internal thoracic artery grafting increase long-term survival in diabetic patients? *The Annals of Thoracic Surgery*, 2006;81:599-606.
37. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE. Can EuroSCORE accurately predict long-term outcome after cardiac surgery? *Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine*, 2005;2:620-621.
38. Lorentziadis M, Chamogeorgakis T, **Toumpoulis IK**, Karayannacos P, Dosios T. Topographic anatomy of bronchial arteries in the pig: a corrosion cast study. *Journal of Anatomy*, 2005;207:427-432.

39. Katritsis DG, **Toumpoulis IK**, Karabinos I, Giazitzoglou E, Korovesis S, Paxinos G, Anagnostopoulos CE. Latent arterial hypertension in apparently lone atrial fibrillation. A prospective study. *Journal of Interventional Cardiac Electrophysiology*, 2005;13:203-207.
40. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Katritsis DG, DeRose JJ, Swistel DG. The impact of preoperative thrombolysis on long-term survival after coronary artery bypass grafting. *Circulation*, 2005;112[suppl I]:I351-I357.
41. Connery CP, **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Hillel Z, Rahman FG, Katritsis D, Swistel DG. Does leukofiltration reduce pulmonary infections in CABG patients? A prospective, randomized study with early results and midterm survival. *Acta Cardiologica*, 2005;60:285-293.
42. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Toumpoulis SK, Swistel DG, DeRose JJ. EuroSCORE predicts long-term mortality after heart valve surgery. *The Annals of Thoracic Surgery*, 2005;79:1902-1908.
43. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, DeRose JJ, Swistel DG. Does EuroSCORE predict length of stay and specific postoperative after coronary artery bypass grafting? *International Journal of Cardiology*, 2005;105:19-25.
44. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Toumpoulis SK, DeRose JJ, Swistel DG. Risk factors for sepsis and endocarditis and long-term survival following coronary artery bypass grafting. *World Journal of Surgery*, 2005;29:621-627.
45. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE. Does EuroSCORE predict length of stay and specific postoperative complications after valve surgery? *Journal of Heart Valve Diseases*, 2005;14:243-250.
46. Ro CY, **Toumpoulis IK**, Ashton RC Jr, Imielinska C, Jebara T, Shin SH, Zipkin JD, McGinty JJ, Todd GJ, DeRose JJ Jr. A novel drill set for the enhancement and assessment of robotic surgical performance. *Studies in Health Technology and Informatics*, 2005;111:418-421.
47. Ro CY, **Toumpoulis IK**, Ashton RC Jr, Jebara T, Schulman C, Todd GJ, DeRose JJ Jr, McGinty JJ. The LapSim: A learning environment for both experts and novices. *Studies in Health Technology and Informatics*, 2005;111:414-417.
48. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, DeRose JJ, Swistel DG. The impact of deep sternal wound infection on long-term survival after coronary artery bypass grafting. *Chest*, 2005;127:464-471.
49. DeRose JJ, **Toumpoulis IK**, Balaram SK, Ioannidis JP, Belsley S, Ashton RC, Swistel DG, Anagnostopoulos CE. Preoperative prediction of long-term survival following coronary artery bypass grafting in patients with low left ventricular ejection fraction. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2005;129:314-321.

50. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Swistel DG, DeRose JJ. Does EuroSCORE predict length of stay and specific postoperative complications after cardiac surgery? *European Journal of Cardiothoracic Surgery*, 2005;27:128-133.
51. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, DeRose JJ, Swistel DG. Early and midterm outcome after off-pump coronary artery bypass grafting in patients with left ventricular dysfunction. *Heart Surgery Forum*, 2004;7:E539-E545.
52. Siminelakis S, Anagnostopoulos C, **Toumpoulis I**, DeRose J, Katritsis D, Swistel D. What is the mortality and recuperative difference of bilateral versus single thoracic artery coronary revascularization in patients with reoperation or over 80 years of age? *Journal of Cardiac Surgery*, 2004;19:511-515.
53. Siminelakis S, Karfis E, Anagnostopoulos C, **Toumpoulis I**, Katsaraki A, Drossos G. Harvesting radial artery and neurologic complications. *Journal of Cardiac Surgery*, 2004;19:505-510.
54. **Toumpoulis IK**, Papakostas JC, Matsagas MI, Malamou-Mitsi VD, Pappa LS, Drossos GE, DeRose JJ, Anagnostopoulos CE. Superiority of early relative to late ischemic preconditioning in spinal cord protection after descending thoracic aortic occlusion. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2004;128:724-730.
55. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Shennib H, DeRose JJ, Swistel DG. Influence of innovative techniques on mid-term results in patients with minimally invasive direct coronary artery bypass and off-pump coronary artery bypass. *Heart Surgery Forum*, 2004;7:31-36.
56. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, DeRose JJ, Swistel DG. European system for cardiac operative risk evaluation predicts long-term survival in patients with coronary artery bypass grafting. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*, 2004;25:51-58.
57. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Drossos GE, Malamou-Mitsi VD, Pappa LS, Katritsis DG. Early ischemic preconditioning without hypotension prevents spinal cord injury caused by descending thoracic aortic occlusion. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2003;125:1030-1036.
58. Drossos GE, **Toumpoulis IK**, Katritsis DG, Ioannidis JPA, Kontogiorgi P, Svarna E, Anagnostopoulos CE. Is vitamin C superior to diltiazem for radial artery vasodilation in patients awaiting coronary artery bypass grafting? *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2003;125:330-335.
59. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Drossos GE, Malamou-Mitsi VD, Pappa LS, Katritsis DG. Does ischemic preconditioning reduce spinal cord injury because of descending thoracic aortic occlusion? *Journal of Vascular Surgery*, 2003;37:426-432.

60. Kalef-Ezra J, Michalis LK, Malamou-Mitsi V, Tsekeris P, Katsouras C, Boziari A, **Toumpoulis I**, Bozios G, Charchanti A, Sideris DA. External beam irradiation in angioplasted arteries of hypercholesterolemic rabbits: the dose and time effect. *Cardiovascular Radiation Medicine*, 2002;3:20-25.
61. Kalef-Ezra J, Michalis LK, Tsekeris P, Gloutsianou G, Katsouras C, Vardakas D, Boziari A, **Toumpoulis G**, Nikou D, Malamou-Mitsi V, Sideris DA. External beam irradiation following balloon angioplasty in an atherosclerotic rabbit model. *Cardiovascular Radiation Medicine*, 1999;1:344-348.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΕΠΙΣΤΟΛΕΣ ΠΡΟΣ ΤΟΝ ΕΚΔΟΤΗ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΚΡΙΣΗ

1. **Toumpoulis IK**. Resveratrol or higher arterial blood pressure protects the spinal cord from ischemia-reperfusion injury? *The Annals of Thoracic Surgery*, 2006;82:1572-1573.
2. **Toumpoulis IK**. Immediate ischemic preconditioning for spinal cord protection following descending thoracic aortic cross-clamping. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*, 2006;29:126.
3. Anagnostopoulos CE, **Toumpoulis IK**, DeRose JJ. Prediction of length of stay postoperative complications and long-term mortality by EuroSCORE. *International Journal of Cardiology*, 2005;101:119-120.
4. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE. Rapid ischemic preconditioning for spinal cord protection after transient aortic occlusion. *Anesthesiology*, 2004;101:261-262.
5. **Toumpoulis IK**. Early ischaemic preconditioning reduces spinal cord injury in transient ischaemia. *Acta Cardiologica*, 2003;58:571-572.
6. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE, Drossos GE. Reply to the editor. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2003;126:1672.
7. **Toumpoulis IK**. The role of early ischemic preconditioning in spinal cord protection after transient aortic occlusion. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*, 2003;24:851-852.
8. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE. Early ischemic preconditioning for spinal cord protection. *The Annals of Thoracic Surgery*, 2003;76:1340-1341.
9. **Toumpoulis IK**, Anagnostopoulos CE. The impact of early ischemic preconditioning on spinal cord injury. *Cardiovascular Surgery*, 2003;11:429-430.

ΒΙΒΛΙΑ ΚΑΙ ΚΕΦΑΛΑΙΑ ΣΕ ΒΙΒΛΙΑ

1. **Τούμπουλης ΙΚ**. Ελάχιστα επεμβατική θωρακοχειρουργική. Στο Χειρουργική, Αθήνα 2011 (Εκδότης: Παπαλάμπρος Ε) σελ. 1003-1013.
2. **Τούμπουλης ΙΚ**, Αγγουράς ΔΚ, Χαμογεωργάκης ΘΠ, Ρόκκας ΧΚ. Θωρακικό τοίχωμα και μεσοθωράκιο. Χειρουργικές παθήσεις των πνευμόνων. Χειρουργικές παθήσεις της καρδιάς στους ενήλικες. Στο *Χειρουργική*, Αθήνα 2009 (Εκδότης: Βώρος ΔΚ) σελ. 865-907. Παρισιάνος.
3. Rokkas C, Angouras D, Chamogeorgakis T, Mitropoulos F, **Toumpoulis I**, Stamou S, Anagnostopoulos C. Treatment of aortic arch diseases. Στο *European Manual of Medicine: Vascular Surgery*, 2007 (C. Liapis Ed.) pp. 643-663. Springer.
4. **Τούμπουλης Ι**, Μπελλένης Ι. Χειρουργική θεραπεία και αντιμετώπιση των πνευμονικών μεταστάσεων. Στο *Κλινική Ογκολογία*, Αθήνα 2007 (Εκδότης: Επαγγελματική Ένωση Παθολόγων Ογκολόγων Ελλάδας) σελ. 452-458.
5. **Τούμπουλης ΙΚ**. Ο ρόλος του ισχαιμικού preconditioning στην προστασία του νωτιαίου μυελού μετά από αποκλεισμό της κατιούσας θωρακικής αορτής. Διδακτορική Διατριβή, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, 2003; σελ. 1-134, Ιωάννινα, Ελλάδα.
6. Galaris D, Kokkoris S, **Toumpoulis I**, Korantzopoulos P. The molecular mechanism of interaction of H₂O₂ with metmyoglobin. Στο *Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants. Pathological and Physiological Significance*, 1998; (T. Ozben Ed.) pp. 93-101. Plenum Press, New York, United States.

ΣΥΓΓΡΑΦΙΚΟ ΕΡΓΟ – ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΤΗΝ ΕΚΔΟΤΙΚΗ ΟΜΑΔΑ
(EDITORIAL BOARD) ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΟΔΙΚΩΝ

2007: Editorial Advisory Board – The Open Anesthesiology Journal
 2013: Editorial Board – World Journal of Anesthesiology
 2013: Editorial Board – Journal of Cardiology and Therapeutics

ΣΥΓΓΡΑΦΙΚΟ ΕΡΓΟ – ΚΡΙΤΗΣ ΣΕ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΙΑΤΡΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. ***Stroke***
2. ***Intensive Care Medicine***
3. ***American Heart Journal***
4. ***Heart***
5. ***Chest***
6. ***Experimental Biology and Medicine***
7. ***European Journal of Clinical Investigation***
8. ***The Annals of Thoracic Surgery***
9. ***BMC Infectious Diseases***
10. ***Acta Anaesthesiologica Scandinavica***
11. ***International Journal of Cardiology***
12. ***Canadian Journal of Anaesthesia***
13. ***European Journal of Cardio-thoracic Surgery***
14. ***American Journal of Cardiology***
15. ***Medical Science Monitor***
16. ***Artificial Intelligence in Medicine***
17. ***Theoretical Biology and Medical Modelling***

ΒΡΑΒΕΙΑ - ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ

1. **Βραβείο** από το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών για την πανεπιστημιακή επίδοσή μου στο **4^ο έτος σπουδών**. Πρώτος με βαθμό 8,87 (άριστα). Ιωάννινα 1997.
2. Η εργασία με θέμα: «Εθισμός στο INTERNET» των **I. Κ. Τούμπουλη**, Σ. Κ. Τούμπουλη και Σ. Γιαννίτση, τιμήθηκε με το **1^ο βραβείο** καλύτερης ελεύθερης ανακοίνωσης στο 4^ο Επιστημονικό Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδας, Απρίλιος 3-5, Ιωάννινα 1998.
3. **Άριστείο Προόδου** για την άριστη επίδοσή μου στο μάθημα της Παθολογικής Ανατομικής, 12 Μαΐου, Ιωάννινα 1998.
4. Η εργασία με θέμα: «Πειραματικό μοντέλο επαναστένωσης μετά αγγειοπλαστική. Μελέτη της ιστικής-κυτταρικής αντίδρασης και του ρόλου του NO» των **I. Κ. Τούμπουλη**, Γ. Γλουσιάνου, Δ. Βαρδάκα, Δ. Παπαδημητρίου, Θ. Τρικαλινού, Δ. Γαλάρη, Α. Μιχάλη και Β. Μαλάμου-Μήτση, τιμήθηκε με το **1^ο βραβείο** καλύτερης ελεύθερης ανακοίνωσης στο 5^ο Επιστημονικό Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδας, Απρίλιος 23-25, Αλεξανδρούπολη 1999.
5. Η εργασία με θέμα: «Interactive human: Απεικόνιση μορφωμάτων στις τρεις διαστάσεις με τη χρήση Η/Υ» των Α. Παπαδονικολάκη, U. Moebius, **I. Τούμπουλη**, Σ. Θωμοπούλου και Χ. Χρυσοστομίδα, τιμήθηκε με το **3^ο βραβείο** καλύτερης ελεύθερης ανακοίνωσης στο 5^ο Επιστημονικό Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδας, Απρίλιος 23-25, Αλεξανδρούπολη 1999.
6. **1^ο βραβείο** στην 3^η Ολυμπιάδα Ιατρικής Γνώσης, για την επίδοση στον διαγωνισμό της Ιατρικής Γνώσης που έγινε στην Αλεξανδρούπολη, 24 Απριλίου 1999.
7. Η εργασία με θέμα: «Μελέτη του οξειδωτικού στρες (νιτροτυροσίνες), κυτταρικού πολλαπλασιασμού και απόπτωσης σε πειραματικό μοντέλο επαναστένωσης μετά αγγειοπλαστική» των Α. Μιχάλη, Β. Μαλάμου-Μήτση, **I. Κ. Τούμπουλη**, Γ. Γλουσιάνου, Δ. Βαρδάκα, Χ. Κατσούρα, Δ. Γαλάρη και Δ. Α. Σιδερέ, τιμήθηκε με το **3^ο βραβείο** καλύτερης ερευνητικής εργασίας στο 2^ο Καρδιολογικό Συνέδριο Κεντρικής Ελλάδος, Δεκέμβριος 3-5, Λάρισα 1999.
8. Η εργασία με θέμα: «Η επίδραση της εξωτερικής ακτινοβολίας στην αναδιαμόρφωση του αγγείου μετά από αγγειοπλαστική σε υπερχοληστερολαιμικά κουνέλια. Σημασία δόσης και χρόνου» των Τ. Καλέφ-Εζρά, Α. Κ. Μιχάλη, Β. Μαλάμου-Μήτση, Π. Τσέκερη, Γ. Γλουσιάνου, Χ. Κατσούρα, Δ. Βαρδάκα, **I. Τούμπουλη**, Α. Μποσιάρη, και Δ. Α. Σιδερέ, τιμήθηκε με το **1^ο βραβείο** καλύτερης ερευνητικής προφορικής ανακοίνωσης στο 21^ο Πανελλήνιο Καρδιολογικό Συνέδριο, Νοέμβριος 2-4, Αθήνα 2000.

9. Η εργασία με θέμα: «Πειραματικό μοντέλο για τη μελέτη της ισχαιμίας του νωτιαίου μυελού μετά από αποκλεισμό της κατιούσας θωρακικής αορτής» των **Ιωάννη Κ. Τούμπουλη**, Γεωργίου Δρόσου, Δημήτριου Ματθαίου, Βασιλικής Μαλάμου-Μήτση και Κωνσταντίνου Ε. Αναγνωστόπουλου τιμήθηκε με το **1^ο βραβείο** καλύτερης προφορικής ανακοίνωσης και χρηματικό έπαθλο 600 € στο 8^ο Επιστημονικό Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδος, Απρίλιος 19-21, Ιωάννινα 2002.
10. Η εργασία με θέμα: «Ο ρόλος του ισχαιμικού “preconditioning” στην προστασία του νωτιαίου μυελού μετά από επεμβάσεις στη θωρακική αορτή» των **Ιωάννη Κ. Τούμπουλη**, Γεωργίου Δρόσου, Δημοσθένη Κατρίτση και Κωνσταντίνου Αναγνωστόπουλου, τιμήθηκε με **χρηματικό έπαθλο** 1.500 € στο 3^ο Καρδιολογικό Συνέδριο Βορείου Ελλάδος, Μάιος 16-18, Θεσσαλονίκη 2002.
11. Η εργασία με θέμα: «Το πρώιμο ισχαιμικό preconditioning προστατεύει το νωτιαίο μυελό μετά από αποκλεισμό της κατιούσας θωρακικής αορτής» των **Ιωάννη Κ. Τούμπουλη**, Γεωργίου Δρόσου, Βασιλικής Μαλάμου-Μήτση και Κωνσταντίνου Ε. Αναγνωστόπουλου τιμήθηκε με το **1^ο βραβείο** καλύτερης προφορικής ανακοίνωσης στο 4^ο Πανελλήνιο και 1^ο Βαλκανικό Συνέδριο στη Χειρουργική Θώρακος, Καρδιάς και Αγγείων, Σεπτέμβριος 5-8, Κως 2002.
12. Η εργασία με θέμα: «Early Ischemic Preconditioning Prevents Spinal Cord Injury Due To Descending Thoracic Aortic Occlusion» του **Ioannis K. Toumpoulis** τιμήθηκε με το βραβείο **“TALAL ZEIN – YOUNG INVESTIGATOR AWARD”** για την άριστη ερευνητική μελέτη του και **χρηματικό έπαθλο** 1000\$ στο 14th Annual Meeting of Mediterranean Association of Cardiology and Cardiac Surgery, October 9-12, Rhodes, Greece 2002.
13. Η εργασία με θέμα “Is Early Superior To Late Ischemic Preconditioning For The Prevention Of Spinal Cord Injury Due to Descending Thoracic Aortic Occlusion?” των **Toumpoulis IK**, Athanasoulas D, Malamou-Mitsi VD and Anagnostopoulos CE τιμήθηκε με **Award of the best presented abstract** στο 3rd International Meeting, 10th Anniversary of the Onassis Cardiac Surgery Center, April 10-13, Athens, Greece 2003.
Scientific Committee: Norman Shumway, MD Stanford, USA and Henry Edmunds Jr, MD Philadelphia, USA.
14. Η εργασία με θέμα: «Το όνιμο ισχαιμικό preconditioning μειώνει τη βλάβη του νωτιαίου μυελού μετά από αποκλεισμό της κατιούσας θωρακικής αορτής» των **Τούμπουλη ΙΚ**, Αναγνωστόπουλου ΚΕ και Μαλάμου-Μήτση ΒΔ τιμήθηκε με τον **Έπαινο του επάθλου «Σωτήρης Παπασταμάτης»** [Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής 2004;21(3):253-261] στο 29^ο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Μάιος 20-24, Αθήνα 2003.

15. Η εργασία με θέμα «Διερεύνηση των βλαβών του νωτιαίου μυελού μετά από αποκλεισμό της θωρακοκοιλιακής αορτής σε χοίρους» των Παπακώστα ΙΧ, Ματσάγκα ΜΙ, **Τούμπουλη ΙΚ**, Μαλάμου-Μήτση ΒΔ, Παππά ΛΣ, Αναγνωστόπουλου ΚΕ και Καππά ΑΜ τιμήθηκε με Έπαινο για την καλύτερη ερευνητική μελέτη στο 9^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Αγγειοχειρουργικής – Αγγειολογίας, Ιανουάριος 23-25, Αθήνα 2004.
16. Η εργασία με θέμα: “The impact of chronic obstructive pulmonary disease on long-term survival following coronary artery bypass grafting” του **Ioannis K. Toumpoulis** τιμήθηκε με Young Investigator Award και χρηματικό έπαθλο 1000\$ στο Chest 2004 Congress, October 23-28, Seattle, WA, USA 2004.
17. Βραβείο Fellow Travel Award: 1000\$ από την American Heart Association (η κρίση των βραβείων έγινε με βάση τα βιογραφικά σημειώματα των υποψηφίων) στον **Ioannis K. Toumpoulis** (Columbia University, New York, NY) στο 6th Scientific Forum on Quality of Care and Outcomes Research in Cardiovascular Disease and Stroke, May 14-16, Washington, DC, USA 2005.
18. Η εργασία με τίτλο: «Preoperative prediction of long-term survival following coronary artery bypass grafting in patients with low left ventricular ejection fraction. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2005;129:314-321» συγγραφείς: DeRose JJ, **Toumpoulis IK**, Balaram SK, Ioannidis JP, Belsley S, Ashton RC, Swistel DG, Anagnostopoulos CE ανακηρύχθηκε μεταξύ των «τεσσάρων πιο πολύτιμων εργασιών» οι οποίες αναμένεται να επηρεάσουν «το μέλλον των ειδικών της καρδιοχειρουργικής». *Journal of the American College of Cardiology* 2006;47:2094-2107: The Year in Cardiovascular Surgery.
19. Marquis Who’s Who in Science and Engineering (2006).
20. Πρώτος Διεθνής αποδέκτης του Βραβείου Edward B. Diethrich Surgical Vascular Society με σκοπό την απόκτηση εμπειρίας σε Άριστα Κέντρα των ΗΠΑ πάνω στην τεχνολογία της ενδαγγειακής θεραπείας των αορτικών νοσημάτων. Scottsdale, AZ, USA 2008.
21. Marquis Who’s Who in The World (2008).
22. Η εργασία με θέμα: “Differential Expression of Collagen Type V and XI alpha-1 in Human Ascending Thoracic Aortic Aneurysms” του **Ioannis K. Toumpoulis** τιμήθηκε με Βραβείο καλύτερης προφορικής ανακοίνωσης και χρηματικό έπαθλο 1000€ στο 5th International Meeting of the Onassis Cardiac Surgery Center, September 16-18, Athens, Greece 2010.
23. Η εργασία με θέμα: “Προστασία του μυοκαρδίου από τη βλάβη ισχαιμίας επαναιμάτωσης με τη χορήγηση μιτοχονδρίων” του **Ιωάννη Κ. Τούμπουλη** τιμήθηκε με Έπαινο καλύτερης ανακοίνωσης στο 8^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Χειρουργών Θώρακος-Καρδιάς-Αγγείων, Νοέμβριος 18-20, Αθήνα, Ελλάδα 2010.

24. Η εργασία με θέμα: “Η γονιδιακή έκφραση του κολλαγόνου τύπου XI(α1) σε ασθενείς με μη-μικροκυτταρικό καρκίνο πνεύμονα σχετίζεται με την πρόγνωση” των Φ. Περλικού, Θ. Χαμογεωργάκη, Δ. Αγγουρά, Χ. Ρόκκα και **I. Τούμπουλη** τιμήθηκε με **Έπαινο** στο 20^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Νοέμβριος 24-27, Αθήνα, Ελλάδα 2011.
25. Η εργασία με θέμα: “Lazaroid (U-74389G) prevents lung injury caused by remote systematic ischemia-reperfusion following descending thoracic aortic occlusion” των Φ. Περλικού **I. Τούμπουλη** και Ν. Βασιλόπουλου τιμήθηκε με **Βραβείο ερευνητικής υποτροφίας** στο 20^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Νοέμβριος 24-27, Αθήνα, Ελλάδα 2011.

ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ

1. Υποτροφία από το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών, για την επίδοση **εισαγωγής** μου στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, μετά από επιτυχείς Γενικές Πανελλαδικές Εξετάσεις το 1993.
2. Υποτροφία από το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών, για την άριστη επίδοσή μου στο **4^ο έτος** σπουδών το 1997. Πρώτος στο 4^ο έτος με βαθμό 8,87 (άριστα).
3. Υποτροφία από την **European School for Cardio-thoracic Surgery** για την παρακολούθηση του σεμιναρίου Καρδιοχειρουργουργικής (Level 1), Νοέμβριος 7-12, Bergamo, Italy, 2005.
4. Υποτροφία από την **European School for Cardio-thoracic Surgery** για την παρακολούθηση του σεμιναρίου Καρδιοχειρουργουργικής (Level 2), Μάρτιος 6-11, Bergamo, Italy, 2006.
5. Υποτροφία από την **European School for Cardio-thoracic Surgery** για την παρακολούθηση του σεμιναρίου με θέμα «Πως να γράφετε επιστημονικές εργασίες στην Καρδιοχειρουργική», Μάρτιος 23-25, Prague, Czech Republic, 2006.
6. Υποτροφία από την **European School for Cardio-thoracic Surgery** για την παρακολούθηση του σεμιναρίου Καρδιοχειρουργουργικής (Level 3), Νοέμβριος 13-18, Bergamo, Italy, 2006.
7. Υποτροφία από την **American Association for Thoracic Surgery: Evarts A. Graham Memorial Traveling Fellowship 2007-2008** για απόκτηση περαιτέρω εμπειρίας στην Καρδιοχειρουργική στο **Beth Israel Deaconess Medical Center, Harvard Medical School**. **Επιβλέπων έχει οριστεί ο Καθηγητής Καρδιοχειρουργικής Dr. Sidney Levitsky (Beth Israel Deaconess Medical Center, Harvard Medical School)**. Η υποτροφία αυτή αποτελεί μία από τις πιο μεγάλες διακρίσεις στον τομέα της Καρδιοχειρουργικής, δεδομένου ότι απονέμεται μία φορά κάθε χρόνο σε παγκόσμιο επίπεδο σε ένα μη-Αμερικανό Καρδιοχειρουργό.
(http://aats.org/EducationTraining/ClinicalFellowships/Graham_Memorial_Recip.cgi)