

ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
Α' ΚΛΙΝΙΚΗ ΘΩΡΑΚΟΣ, ΚΑΡΔΙΑΣ ΚΑΙ ΜΕΓΑΛΩΝ ΑΓΓΕΙΩΝ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΑΝ.ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΚΥΡΙΑΚΟΣ ΑΝΑΣΤΑΣΙΑΔΗΣ

ΠΑΝ. ΕΤΟΣ 2013-2014

ΑΡΙΘΜ 2569

Ο ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΜΕΤΑΛΛΟΠΡΩΤΕΪΝΑΣΩΝ
ΚΑΙ ΤΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ ΑΝΑΣΤΟΛΕΩΝ ΤΟΥΣ
ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΕΓΧΕΙΡΗΣΕΩΝ
ΑΟΡΤΟΣΤΕΦΑΝΙΑΪΑΣ ΠΑΡ'ΑΚΑΜΨΗΣ ΜΕ ΚΑΙ ΧΩΡΙΣ
ΕΞΩΣΩΜΑΤΙΚΗ ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑ

ΕΥΘΥΜΙΑΣ Γ. ΡΟΥΣΚΑ
ΙΑΤΡΟΥ ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΟΥ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΥΠΟΒΛΗΘΗΚΕ ΣΤΟ ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΤΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΟΥ ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2013

Η ΤΡΙΜΕΡΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ ΣΠΑΝΟΣ, ΟΜ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΑΠΘ

ΧΡΗΣΤΟΣ ΠΑΠΑΚΩΝΣΤΑΝΤΙΚΟΥ, ΟΜ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΑΠΘ

ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ ΚΩΤΣΗΣ, ΟΜ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΑΠΘ

Η ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ ΣΠΑΝΟΣ, ΟΜ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΑΠΘ

ΧΡΗΣΤΟΣ ΠΑΠΑΚΩΝΣΤΑΝΤΙΚΟΥ, ΟΜ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΑΠΘ

ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ ΚΩΤΣΗΣ, ΟΜ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΑΠΘ

ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ ΛΑΜΠΡΟΠΟΥΛΟΣ, ΑΝ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΑΠΘ

ΚΥΡΙΑΚΟΣ ΑΝΑΣΤΑΣΙΑΔΗΣ, ΑΝ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΑΠΘ

ΘΕΟΔΩΡΟΣ ΚΟΝΤΑΚΙΩΤΗΣ, ΕΠ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΑΠΘ

ΙΩΑΝΝΗΣ ΣΤΥΛΙΑΔΗΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΑΠΘ

«Η έγκριση της Διδακτορικής Διατριβής υπό της Ιατρικής Σχολής του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης δεν υποδηλοί αποδοχήν των γνώμων του συγγραφέως»

(Νόμος 5343/32, άρθρο 202 § 2 και Νόμος 1268/82, άρθρο 50 § 8)

ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΤΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ ΓΑΡΥΦΑΛΛΟΣ
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

*Στο σύντροφο της ζωής μου,
Καρδιοχειρουργό Νίκο Χαροκόπο,
με ένα μεγάλο ευχαριστώ για όλα όσα η αγάπη του μου χάρισε*

*Στα παιδιά μου,
Αντώνη και Γεωργία,
με ευγνωμοσύνη για τις χαρές ζωής που μου έχουν προσφέρει
και τύψεις για αυτά που η ιατρική μου ταυτότητα τους στέρησε*

*Στον Καθηγητή Καρδιολογίας του Πανεπιστημίου Αθηνών
και Διευθυντή του Καρδιολογικού Τμήματος του ΓΝΑ «Ευαγγελισμός»,
κ.Αντώνη Μανώλη,
με βαθύτατη εκτίμηση*

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	11
----------------------	-----------

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΑΟΡΤΟΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΠΑΡΑΚΑΜΨΗ.....	19
i. Ιστορία.....	19
2. ΕΞΩΣΩΜΑΤΙΚΗ ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑ (Ε/Κ).....	21
i. Ιστορία.....	21
ii. Τυπική συσκευή Ε/Κ.....	23
3. ΑΟΡΤΟΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΠΑΡΑΚΑΜΨΗ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ Ε/Κ (CCABG).....	25
I. Ιστορία.....	25
II. Τεχνική.....	25
4. ΑΟΡΤΟΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΠΑΡΑΚΑΜΨΗ ΧΩΡΙΣ ΤΗ ΧΡΗΣΗ Ε/Κ (ORCAB).....	27
i. Ιστορία.....	27
ii. Τεχνική.....	28
5. Ε/Κ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΉ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ (SIRS).....	29
6. ΑΟΡΤΟΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΠΑΡΑΚΑΜΨΗ ΜΕ ΚΑΙ ΧΩΡΙΣ ΤΗ ΧΡΗΣΗ Ε/Κ – ΣΥΓΚΡΙΣΗ.....	33
i. Συστηματική φλεγμονώδης αντίδραση σε αορτοστεφανιαία παράκαμψη με και χωρίς τη χρήση Ε/Κ	35

ii.	Μυοκαρδιακό τραύμα σε αορτοστεφανιαία παράκαμψη με και χωρίς τη χρήση Ε/Κ.....	42
7.	ΜΕΤΑΛΛΟΠΡΩΤΕΪΝΑΣΕΣ (MMPs)	43
i.	Κολλαγόνο - καρδιακή λειτουργία των MMPs.....	43
II.	MMPS - Γενικότητες.....	45
iii.	Κατηγοριοποίηση των MMPs	46
IV.	Η δομή των MMPs	49
v.	Παραγωγή των MMPs	51
vi.	Ενεργοποίηση - ρύθμιση δραστηκότητας των MMPs	52
8.	ΕΝΔΟΓΕΝΕΪΣ ΑΝΑΣΤΟΛΕΪΣ ΤΩΝ MMPs (TIMPs)	56
9.	MMPs ΚΑΙ Ε/Κ	58

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.	ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	67
2.	ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	75
	α. Γενικά στοιχεία.....	75
	β. Παρουσίαση δείγματος.....	75
	γ. Έλεγχοι κανονικότητας.....	84
	δ. Έλεγχοι υποθέσεων.....	85
3.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	87
	α. Βαρύτητα χειρουργικής επεμβάσεις και καρδιοχειρουργικός κίνδυνος.....	87
	β. Εγχειρήσεις CCABG.....	88
	γ. Εγχειρήσεις OPCAB.....	93
4.	ΣΥΖΗΤΗΣΗ	99

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	109
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	113
SUMMARY.....	117
ΞΕΝΕΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ.....	121
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ	123
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	141

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

*We are at the end of the beginning in understanding MMP biology...”
(The MMPs’ Gordon Research Conference, 2005)*

Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMPs) είναι πρωτεολυτικά ένζυμα υπεύθυνα για την αποδόμηση συστατικών της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας τόσο σε φυσιολογικές διαδικασίες, όσο και σε παθολογικές διαδικασίες. Η τελική δράση των MMPs εξαρτάται από τη σχετική συγκέντρωση των ενεργών μορφών και των αντίστοιχων φυσικών τους Αναστολέων (TIMPs). Σε έδαφος παθολογικών διεργασιών αυτή η ισορροπία διαταράσσεται.

Η χρήση της εξωσωματικής κυκλοφορίας (E/K) συντέλεσε σημαντικά στην καθιέρωση της αορτοστεφανιαίας παράκαμψης στην αντιμετώπιση της στεφανιαίας νόσου καθώς και στην εν γένει πρόοδο της Καρδιοχειρουργικής. Η E/K όμως ενοχοποιείται για μια σειρά δυνητικά επιβλαβών διαδικασιών με την οποία είναι συνυφασμένη. Η κλινική εμφάνιση των διαδικασιών αυτών περιλαμβάνει ένα ευρύ φάσμα εκδηλώσεων, που κυμαίνεται από μία ήπια οργανική δυσλειτουργία έως και ανεπάρκεια πολλών οργάνων πολλών συστημάτων.

Εν πρώτοις, η διέλευση του αίματος μέσα από τις μη επιθηλιοποιημένες επιφάνειες του κυκλώματος της εξωσωματικής κυκλοφορίας είναι δυνατόν να προκαλέσει την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος – Ειδική ανοσοαπάντηση (specific response) και Μη Ειδική ανοσοαπάντηση (innate or non specific, immediate response). Η Ειδική ανοσοαπάντηση είναι ασθενής αντίδραση και αναπτύσσεται με αργούς ρυθμούς. Η Μη Ειδική ανοσοαπάντηση όμως είναι οξεία διεργασία και εμφανίζεται ταχύτατα. Η αντίδραση αυτή εντάσσεται στο Σύνδρομο Συστηματικής Φλεγμονώδους Αντίδρασης (Systematic Inflammatory

Response Syndrome, SIRS) και παράγεται από σύνθετες χυμικές και κυτταρικές διεργασίες, με πολυάριθμες αλυσιδωτές αντιδράσεις, που περιλαμβάνουν την ενεργοποίηση, γένεση ή έκφραση παραγόντων όπως η θρομβίνη, το συμπλήρωμα, οι κυτοκίνες (TNF α , IL-1, IL-6, IL-8), τα ουδετερόφιλα, μόρια συγκόλλησης, μαστοκύτταρα και άλλους διαμεσολαβητές φλεγμονής (μεταλλοπρωτεϊνάσες, ενδοτοξίνες, κλπ).

Επιπροσθέτως της πρόκλησης του SIRS, στις καρδιοχειρουργικές επεμβάσεις, εμφανίζεται ένα σύνδρομο γνωστό ως «Τραύμα Ισχαμίας-Επαναιμάτωσης» (Ischemia-Reperfusion Injury). Το σύνδρομο αυτό αποτελεί άλλη μια οξεία διαδικασία στην οποία αποδίδονται φαινόμενα καρδιακής δυσλειτουργίας, όπως το απόπληκτο ή το χειμάζον μυοκάρδιο.

Παρά τις προόδους που έχουν σημειωθεί, η Ε/Κ είναι υπεύθυνη και για τις δύο παραπάνω διεργασίες (Σύνδρομο Συστηματικής Φλεγμονώδους Αντίδρασης, Τραύμα Ισχαμίας-Επαναιμάτωσης) στις οποίες εμπλέκονται και οι MMPs. Η απελευθέρωση κυτοκινών και ελευθέρων ριζών ενοχοποιείται για τον σχηματισμό του AP1, μεταγραφικού παράγοντα, ο οποίος συνδέεται με τον υποκινητή γονιδίων MMPs και ενεργοποιεί τη διαδικασία μεταγραφής των MMPs γονιδίων και τον σχηματισμό ανενεργών MMPs (pro-MMPs). Ουσίες όπως η πλασμίνη, για την υπερπαραγωγή της οποίας ενοχοποιείται η Ε/Κ, βοηθούν στην ενεργοποίηση των ανενεργών MMPs.

Η έρευνα σε ό,τι αφορά την ενεργοποίηση των MMPs και τις μεταβολές των επιπέδων τους είναι σχετικά πρόσφατη και έχει ως επίκεντρο τις χρόνιες παθολογικές καταστάσεις. Αποτελέσματα όμως προσφάτων ερευνών αποδεικνύουν ότι τα ένζυμα αυτά παίζουν ρόλο και σε άλλες οξείες καταστάσεις, όπως είναι το σύνδρομο SIRS. Στο διαδίκτυο υπάρχει ένας πολύ περιορισμένος

αριθμός εργασιών που αποτελούν μόνο την αρχή της κατανόησης των μηχανισμών ενεργοποίησης των MMPs και των μεταβολών των επιπέδων τους κατά τη διάρκεια των εγχειρήσεων με E/K. Και τούτο διότι οι MMPs είναι πολλές σε αριθμό, τα ερεθίσματα που δέχεται ο ασθενής κατά τις εγχειρήσεις καρδιάς υπο E/K είναι πολυάριθμα και ποικίλα, και δυνητικά μπορεί να επηρεάσουν την έκφρασή τους. Αλλά και ο ίδιος ο καρδιοχειρουργικός ασθενής αποτελεί ένα υπόστρωμα στο οποίο η χρονιότητα κάποιων καρδιαγγειακών παθήσεων μπορεί να έχει ήδη προκαλέσει την ενεργοποίηση των MMPs. Επιπροσθέτως τα καρδιολογικά φάρμακα, στα οποία είναι υπό αγωγή ο ασθενής, μπορεί να προάγουν ή να αναστείλουν την έκφραση των MMPs. Για όλους τους παραπάνω λόγους είναι προφανές ότι το πεδίο έρευνας των MMPs σε καρδιοχειρουργικές επεμβάσεις είναι ένα ιδιαίτερο πεδίο στο οποίο η έρευνα είναι δύσκολη και αποτελεί ιδιαίτερη πρόκληση. Οι δημοσιευμένες εργασίες είναι περιορισμένες σε αριθμό.

Μια μεγάλη και βασική δυσκολία έρευνας στο πεδίο αυτό στο παρελθόν αποτελούσε το γεγονός οτι δεν υπήρχε διαθέσιμη ομάδα ελέγχου ώστε να μελετηθεί η επίδραση της E/K στους καρδιοχειρουργικούς ασθενείς, καθώς η E/K ήταν απαραίτητη προϋπόθεση για την εκτέλεση όλων των εγχειρήσεων αυτών. Με την αναβίωση όμως της στεφανιαίας χειρουργικής χωρίς E/K την τελευταία δεκαετία και την εγκαθίδρυσή της, βασιζόμενη στο επιχείρημα ότι η απουσία της E/K μειώνει σημαντικά την απελευθέρωση των προφλεγμονωδών εκείνων ουσιών που προκαλούν την πυροδότηση του συνδρόμου SIRS, δημιουργήθηκε μια ιδανική ομάδα ελέγχου για τη μελέτη των επιπτώσεων της E/K στην ενεργοποίηση διαφόρων ουσιών/μεσολαβητών και μεταξύ αυτών βέβαια και των MMPs.

Η έρευνα στη διεθνή βιβλιογραφία έδειξε παντελή έλλειψη συγκριτικών μελετών μεταξύ των εγχειρήσεων αορτοστεφανιαίας παράκαμψης με και χωρίς Ε/Κ. Επομένως κατά το σχεδιασμό της παρούσας μελέτης το 2004, καμία εργασία δεν υπήρξε ώστε να κατευθυνθεί ο σχεδιασμός της. Σε πρόσφατη έρευνα στο διαδίκτυο, μόλις δύο εργασίες δημοσιεύθηκαν το 2009.

Σκοπός της παρούσας μελέτης, η οποία διενεργήθηκε στην Α' Κλινική Θώρακος, Καρδιάς και Μεγάλων Αγγείων του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης στο Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης ΑΧΕΠΑ, αποτέλεσε ο προσδιορισμός των μεταλλοπρωτεϊνών MMP-9 και MMP-13 σε ασθενείς που υποβάλλονται σε εγχειρήσεις αορτοστεφανιαίας παράκαμψης με και χωρίς εξωσωματική κυκλοφορία, καθώς και η μελέτη των ταυτόχρονων μεταβολών των φυσικών αναστολέων των μεταλλοπρωτεϊνών TIMP-1 και TIMP-4.

Ολοκληρώνοντας τη μελέτη αισθάνομαι βαθύτατα την ανάγκη να ευχαριστήσω από καρδιάς τον Ομότιμο Καθηγητή Καρδιοχειρουργικής του Α.Π.Θ. κ. Παναγιώτη Σπανό για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε στην ανάθεση της διατριβής, την αμέριστη συμπαράσταση και επίβλεψή του σε όλα της τα στάδια και την καθοριστική συμβολή του στο να φτάσει αυτή η διατριβή στο τέλος της.

Ευχαριστώ επίσης θερμά τον Ομότιμο Καθηγητή Καρδιοχειρουργικής του Α.Π.Θ. κ. Χρήστο Παπακωνσταντίνου, και τον Ομότιμο Καθηγητή Βιολογίας του Α.Π.Θ. κ. Αλέξανδρο Κώτση, μέλη της Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής, για την υποστήριξη και την τιμητική συμβολή τους στη διενέργεια της παρούσας μελέτης.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Αν. Καθηγητή Καρδιοχειρουργικής του ΑΠΘ και Διευθυντή της Α' Κλινικής Θώρακος Καρδιάς και Μεγάλων Αγγείων κ.

Κυριάκο Αναστασιάδη για την έμπειρη και ουσιαστική βοήθειά του στην τελική παρουσίαση της διατριβής.

Εξαιρετικά ευγνώμων είμαι στον εκλεκτό Επ. Καθηγητή Πνευμονολογίας ΑΠΘ κ. Θεόδωρο Κοντακιώτη για τις σοφές και αναντικατάστατες συμβουλές του μαζί με το χρόνο που μου διέθεσε στο τελικό στάδιο της μελέτης.

Επίσης ευχαριστώ τον Αν. Καθηγητή Βιολογίας ΑΠΘ κ. Αλέξανδρο Λαμπρόπουλο, καθώς και τον Καθηγητή Καρδιολογίας ΑΠΘ κ. Ιωάννη Στυλιάδη για όλη την επιστημονική επιστασία της μελέτης.

Δεν θα μπορούσε ποτέ βέβαια να ολοκληρωθεί αυτή η μελέτη χωρίς τη βοήθεια της κ. Βασιλικής Τσαβδαρίδου, Διευθύντριας Ε.Σ.Υ. και υπεύθυνης του Ανοσολογικού Τμήματος του Μικροβιολογικού Εργαστηρίου του Π.Γ. Νοσοκομείου ΑΧΕΠΑ, την οποία και θερμά ευχαριστώ για την ουσιαστική συμβολή της στον προσδιορισμό των τιμών των δειγμάτων.

Ακόμη, ευχαριστώ τους φίλους και συναδέλφους, Καρδιοχειρουργό κ Νικόλαο Παπαδόπουλο και Ανααισθησιολόγο Ανδρέα Κατσάνικο, για την πολύτιμη βοήθειά τους στη συλλογή των δειγμάτων.

Με συγκίνηση ευχαριστώ το γιό μου Αντώνη Χαροκόπο, φοιτητή Ιατρικής στο Cleveland Clinic College of Medicine, USA, για τη βοήθεια που μου παρείχε στη συλλογή μέρους της χρησιμοποιηθείσας βιβλιογραφίας.

Τέλος ένα βαθύ και ταπεινό ευχαριστώ οφείλω στο σύντροφο της ζωής μου, Καρδιοχειρουργό Νίκο Χαροκόπο, ο οποίος στάθηκε και η πηγή της έμπνευσης της παρούσας μελέτης και του οποίου η συνεχής υποστήριξη στη ζωή μου είναι και η αιτία ολοκλήρωσής της.

Α. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΛΟΡΤΟΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΠΑΡΑΚΑΜΨΗ

Η στεφανιαία επαναγγείωση παίζει ένα σημαντικό ρόλο στην αντιμετώπιση της ισχαιμικής νόσου του μυοκαρδίου. Η βασική της αρχή έγκειται στην ορθόδρομη αποκατάσταση της ροής στη στεφανιαία κυκλοφορία με συνέπεια την ανακούφιση των στήθαγχικών ενοχλημάτων. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τη βελτίωση της ποιότητας ζωής, την αύξηση του προσδόκιμου επιβίωσης, την ελάττωση της κατανάλωσης φαρμάκων, γεγονός που με τη σειρά του ελαττώνει το κοινωνικο-οικονομικό κόστος.¹

i. Ιστορία

*«What has been accomplished does not die, but too often, alas, the personality of those who have handed the torch from one generation to another soon fades into oblivion».*²

Harvey Williams Cushing

Η επαναγγείωση του μυοκαρδίου ξεκινά στις αρχές του 1900 με εξωκαρδιακές επεμβάσεις απονεύρωσης του συμπαθητικού (sympathetic denervation). Από εκείνη την περίοδο 1930-1950 έγιναν προσπάθειες νεοαγγείωσης του μυοκαρδίου με χρήση πούδρας και τη δημιουργία άσηπτης φλεγμονώδους κατάστασης.³

Στις αρχές του 1950 ο Vladimir P. Demikhov εκτέλεσε πειράματα, αναστομώνοντας την έσω θωρακική αρτηρία στον πρόσθιο κατιόντα κλάδο. Η πρώτη επιτυχία ήρθε στις 29 Ιουλίου 1953, όταν 3 σκυλιά επέζησαν περισσότερο από 2 χρόνια της επεμβάσεως του V. P. Demikhov, με επιβεβαιωμένη τη βατότητα των αναστομώνσεων.⁴ Έτσι λοιπόν παρά την προσπάθεια των αμερικανών χειρουργών να αποσιωπήσουν το γεγονός, η χειρουργική των στεφανιαίων αγγείων γεννήθηκε στο πειραματικά χειρουργεία του Λένινγκραντ από τον Vladimir P Demikhov.⁵ Η δουλειά του τελευταίου έδωσε τη δυνατότητα

στον Vasili I. Koleson να εκτελέσει επιπλέον πειράματα και αργότερα να εφαρμόσει την τεχνική σε ασθενείς.⁶ Έτσι στις 25 Φεβρουαρίου 1964, αναστόμωσε την έσω μαστική αρτηρία στην περισπωμένη αρτηρία ασθενούς, ο οποίος έμεινε ελεύθερος συμπτωμάτων σε τριετή μετεγχειρητικό έλεγχο.^{7,8} Το γεγονός ότι ο Donald Effler έγραψε σχόλια στο άρθρο του Koleson,^{8,9} φανερώνει ότι η ομάδα του Cleveland Clinic ήταν ενήμερη για το γεγονός, προτού ο Rene G. Favaloro εκτελέσει την πρώτη αορτοστεφανιαία παράκαμψη στην Αμερική στις 9 Μαΐου 1967.^{10,11} Μετά την επιτυχία αυτή, ήταν η ομάδα του Cleveland Clinic που έπεισε όλο τον επιστημονικό κόσμο για την αποτελεσματικότητα της μεθόδου με μια σειρά 171 επεμβάσεων που έγιναν μέσα στο 1968.⁴

Όσον αφορά στις προσπάθειες των αμερικανών χειρουργών, πριν την επιτυχία του Rene' G. Favaloro, αξίζει να αναφερθεί ότι ο Robert Goetz στις 2 Μαΐου 1960 αναστόμωσε τη δεξιά έσω μαστική αρτηρία στη δεξιά στεφανιαία αρτηρία σε άνδρα 38ετων, χρησιμοποιώντας δακτύλιο κατασκευασμένο από ταντάλιο. Καθητηριασμός του ασθενούς την 14^η μετεγχειρητική μέρα έδειξε βατή αναστόμωση. Παρά ταύτα ένα χρόνο μετά, ο ασθενής απεβίωσε μετά οπίσθιο έμφραγμα του μυοκαρδίου παρά την αντιπηκτική αγωγή.¹²

Στις 4 Απριλίου του 1962 ο David Sabiston εκτέλεσε ανεπιτυχή προσπάθεια αορτοστεφανιαίας παράκαμψης. Οι Garrett, Dennis, και DeBakey εκτέλεσαν επιτυχώς αορτοστεφανιαία παράκαμψη στις 23 Νοεμβρίου 1964. Οι Sabiston και Garrett, λίγο αργότερα, εκτέλεσαν την αορτοστεφανιαία παράκαμψη με ταυτόχρονη ενδαρτηρεκτομή. Δεν επανέλαβαν δε οποιαδήποτε προσπάθεια μέχρι την επιτυχημένη δουλειά του Rene G. Favaloro.⁴

2. ΕΞΩΣΩΜΑΤΙΚΗ ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑ (Ε/Κ)

Η επινόηση της μηχανικής υποκατάστασης της καρδιακής και της αναπνευστικής λειτουργίας κατά τη διάρκεια των καρδιοχειρουργικών επεμβάσεων άνοιξε τους ασκούς του Αιόλου στη ραγδαία και αλματώδη ανάπτυξη της καρδιοχειρουργικής.

i. Ιστορία

*”The dream of aspiring cardiac surgeons, was to operate on a quiet, bloodless heart in a deliberate and precise manner”.*¹³

Παρότι από τις αρχές του 20^{ου} αιώνα έγιναν προσπάθειες διατήρησης στη ζωή μικρών ζώων για περιορισμένο χρονικό διάστημα, ο πατέρας της καρδιοπνευμονικής παράκαμψης ή εξωσωματικής κυκλοφορίας (Ε/Κ) είναι ο John H. Gibbon, Jr, MD. Κίνητρο και έμπνευση γι αυτόν αποτέλεσαν τα ερεθίσματα που έλαβε σαν εκπαιδευόμενος το 1931, όταν καθήμενος στο πλευρό μιας νέας γυναίκας που πέθαινε από πνευμονική εμβολή, πείστηκε ότι αυτή θα επιζούσε εάν θα ήταν δυνατόν να διατηρηθεί η κυκλοφορία τεχνητώς. Έτσι ο John Gibbon και η γυναίκα του αφιέρωσαν το καλύτερο μέρος της ζωής τους προσπαθώντας να σχεδιάσουν συσκευή που να υποκαθιστά την εξωθητική λειτουργία της καρδιάς, καθώς και την οξυγονωτική λειτουργία των πνευμόνων. Μέχρι το 1935 είχαν ήδη σχεδιάσει τη συσκευή και τη χρησιμοποίησαν σε γάτες. Όμως πολύ νωρίς βρέθηκαν αντιμέτωποι με το πρόβλημα της καταστροφής των ερυθρών αιμοσφαιρίων, πράγμα που οδηγούσε τα πειραματόζωα στο θάνατο μέσα στις πρώτες 23 μέρες. Από το 1945 και μετά, ο Gibbon με τη συμμετοχή και άλλων ερευνητικών ομάδων κατόρθωσε να βελτιώσει τη συσκευή του, αντιμετωπίζοντας τα προβλήματα εμβολών από θρόμβους και αέρα με τη χρήση φίλτρων. Η συσκευή του ήταν έτοιμη για χρήση σε ανθρώπους.

Έτσι στις 6 Μαΐου 1953 η συσκευή αυτή χρησιμοποιήθηκε σε μια 18 ετών γυναίκα για τη σύγκλειση ενός μεσοκοιλιακού ελλείμματος. Η καρδιά της νεαρής ασθενούς συνδέθηκε με την Ε/Κ για 45 λεπτά και μετά ανένηψε πλήρως. Οι επόμενοι 3 ασθενείς όμως που χειρουργήθηκαν απεβίωσαν μέσα στο χειρουργείο, από πρόωμη δημιουργία θρόμβων στον οξυγονωτή. Φέροντας βαρέως το γεγονός αυτό ο Gibbon δεν ξαναχρησιμοποίησε τη συσκευή του. Εν τω μεταξύ εντατική έρευνα εξελισσόταν στο Πανεπιστήμιο της Minnesota με τον Clarence Dennis, τον John Lewis και τον νέο τότε στην ηλικία C. Walton Lillehei, ο οποίος άρχισε να χρησιμοποιεί τη «διασταυρούμενη» κυκλοφορία (cross circulation) σε εγχειρήσεις ανοιχτής καρδιάς.

Το 1952, ο Gibbon δίνει γενναιόδωρα όλα τα σχέδια της συσκευής του στον John W. Kirklin, που αποφάσισε να προχωρήσει την έρευνα για τη Mayo Clinic. Έτσι πολύ σύντομα η ομάδα της Mayo Clinic είχε τη δική της συσκευή και μέχρι τον Μάρτιο 1955 εκτέλεσε οκτώ επεμβάσεις με τέσσερις επιζήσαντες. Έτσι από τα μέσα της δεκαετίας του 50 το σκηνικό είχε στηθεί. Τα προβλήματα που εμφανίζονταν άρχιζαν να λύνονται με επιμέρους έρευνες, με σπουδαιότερο πρόβλημα αυτό του χρόνου της ισχαιμίας. Εδώ οι ερευνητές του St Thomas's Hospital στο Λονδίνο προσέφεραν τη λύση, με χρήση της υποθερμίας και των καρδιοπληγικών διαλυμάτων για τη μυοκαρδιακή προστασία.

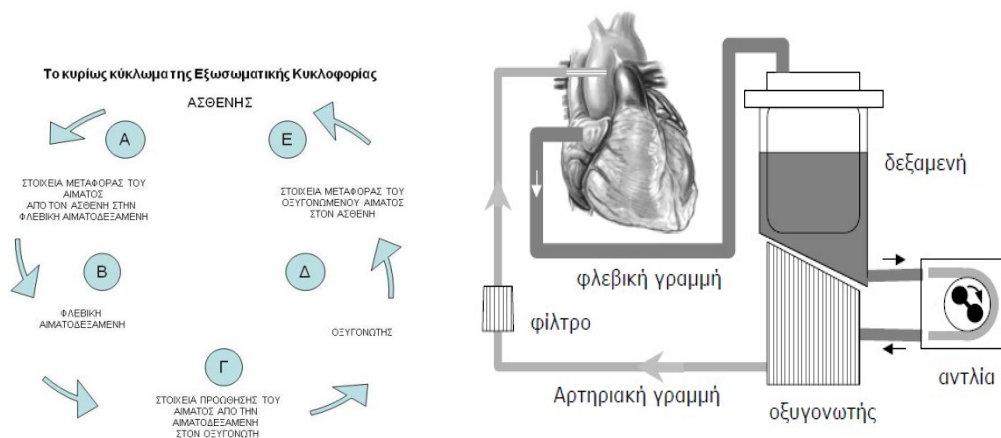
Με την πάροδο του χρόνου όλα τα μέρη της συσκευής της Ε/Κ βελτιώνονταν με ταχείς ρυθμούς, όμως οι πρωτεργάτες του επιστημονικού αυτού επιτεύγματος εκείνης της εποχής δεν θα μπορούσαν ίσως ποτέ να φανταστούν ότι καρδιοχειρουργικές επεμβάσεις θα εκτελούνταν σήμερα με κίνδυνο της τάξεως του 1%.¹³⁻¹⁹

ii. Τυπική Συσκευή Ε/Κ

Τα στοιχεία που αποτελούν το κύκλωμα της Ε/Κ ταξινομούνται ως εξής:

Κυρίως κύκλωμα της καρδιοπνευμονικής παράκαμψης

Αυτό αποτελείται από όλα εκείνα τα στοιχεία που φέρνουν το αίμα από τον ασθενή προς τη φλεβική δεξαμενή και από στοιχεία που προωθούν το αίμα από την φλεβική αιματοδεξαμενή στον οξυγονωτή καθώς και από τα στοιχεία που διοχετεύουν το οξυγονωμένο αίμα από τον οξυγονωτή προς τον ασθενή. (Σχήμα 1)



Σχήμα 1. Το κύκλωμα της Εξωσωματικής Κυκλοφορίας

διαγραμματικά και σχηματικά.

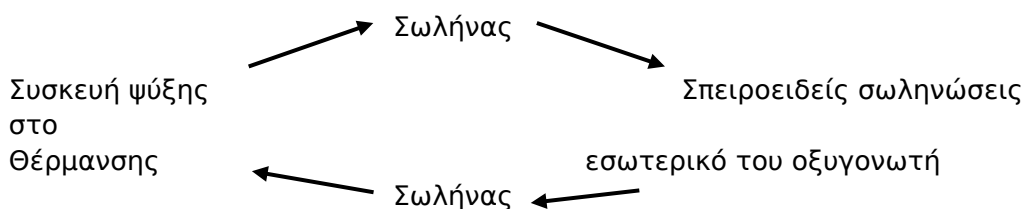
(Τροποποιημένο από Θ.Μαρίνος «Η Μηχανή της Καρδιοπνευμονικής Παράκαμψης»)

Συστήματα συνδεδεμένα με το κυρίως κύκλωμα

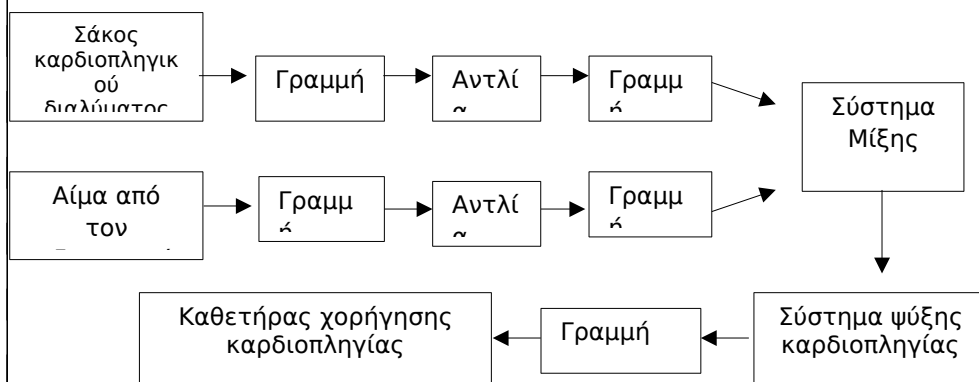
Αυτά είναι το θερμορρυθμιστικό σύστημα, το σύστημα χορήγησης καρδιοπληγίας και το σύστημα χορήγησης μίγματος οξυγόνου/αέρα. (Σχήμα 2) Επίσης στο κύκλωμα είναι συνδεδεμένα και στοιχεία που αφορούν την ασφάλεια του κυκλώματος. Αυτά είναι τα φίλτρα, οι βαλβίδες και τα κυκλώματα εσωτερικής κυκλοφορίας.

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΣΥΝΔΕΔΕΜΕΝΑ ΜΕ ΤΟ ΚΥΚΛΩΜΑ ΤΗΣ ΕΞΩΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑΣ

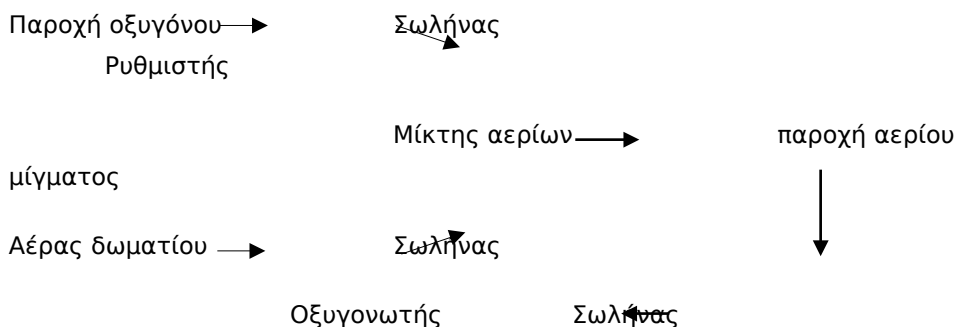
1. ΘΕΡΜΟΡΥΘΟΜΙΣΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ



2. ΣΥΣΤΗΜΑ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΚΑΡΔΙΟΠΛΗΓΙΑΣ



3. ΣΥΣΤΗΜΑ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΑΕΡΑ / ΟΞΥΓΟΝΟΥ



Σχήμα 2. Τα συστήματα που είναι συνδεδεμένα με το κύκλωμα της Εξωσωματικής Κυκλοφορίας διαγραμματικά. (Τροποποιημένο από Θ.Μαρίνος «Η Μηχανή της Καρδιοπνευμονικής Παράκαμψης

3. ΑΟΡΤΟΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΠΑΡΑΚΑΜΨΗ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΕΞΩΣΩΜΑΤΙΚΗΣ ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑΣ (CCABG)

i. Ιστορία

Η ανάπτυξη της Ε/Κ ήταν φυσικό να δώσει ραγδαία ώθηση και στη στεφανιαία χειρουργική. Παρά ταύτα μεταξύ 1955 και 1964 μόνο σποραδικές επεμβάσεις επί των στεφανιαίων αρτηριών αναφέρθηκαν.²⁰ Μόνο μετά την ανάπτυξη της στεφανιογραφίας από τους Sones και Shirey στο Cleveland Clinic, ο Favalaro εισήγαγε την αορτοστεφανιαία παράκαμψη σαν μια θεραπευτική προσέγγιση της στεφανιαίας νόσου και έπεισε τον επιστημονικό κόσμο για την αποτελεσματικότητά της.^{10,11} Η επέμβαση αυτή τυποποιήθηκε να γίνεται με τη χρήση της Ε/Κ, τη χρήση μέτριας υποθερμίας και τη χορήγηση καρδιοπληγίας για μυοκαρδιακή προστασία. Για περισσότερο από 30 χρόνια η καρδιοχειρουργική είναι περήφανη για την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα της στεφανιαίας χειρουργικής, η οποία προσέφερε σε εκατομμύρια ασθενείς την ελευθερία από τα στήθαγχικά ενοχλήματα. Είναι μια επέμβαση ρουτίνας, εύκολα επαναλαμβανομένη, με σχετικά χαμηλό κόστος, και αναμφισβήτητα αποτελεί την πλέον ενδελεχώς μελετηθείσα εγχείρηση της καρδιοχειρουργικής.

*ii. Τεχνική**

Μετά την εισαγωγή στην αναισθησία, με μέση στερνοτομή διανοίγεται ο θώρακας του ασθενούς. Η αριστερή η/και η δεξιά έσω θωρακική αρτηρία παρασκευάζονται για τη χρήση τους ως μοσχευμάτων. Την ίδια χρονική στιγμή μέρος της μείζονος σαφηνούς φλέβας παρασκευάζεται από ένα από τα δυο κάτω

άκρα, για τη χρήση του ως επιπλέον μόσχευμα. Μετά την παρασκευή των μοσχευμάτων και αφού χορηγηθεί ηπαρίνη, ο ασθενής συνδέεται με την Ε/Κ κατά τον ακόλουθο τρόπο: Αορτική κάνουλα εισέρχεται στην ανιούσα αορτή. Φλεβική κάνουλα δυο επίπεδων εισέρχεται στον δεξιό κόλπο. Καθετήρας χορήγησης ορθόδρομης καρδιοπληγίας εισέρχεται στην ανιούσα αορτή κεντρικότερα της αορτικής κάνουλας, ο οποίος έχει τη δυνατότητα χρήσης και ως καθετήρα αποσυμφόρησης (vent). Μετά τη σύνδεση του ασθενούς με την Ε/Κ και εφόσον ο ηπαρινισμός του αίματος είναι επαρκής, αρχίζει η λειτουργία της συσκευής Ε/Κ, και η θερμοκρασία του αίματος χαμηλώνει γύρω στους 33°-34° C. Κατόπιν τοποθετείται λαβίδα αορτικού αποκλεισμού μεταξύ αορτικής κάνουλας και καθετήρα αποσυμφόρησης, ενώ ταυτόχρονα χορηγείται η καρδιοπληγία με την οποία αφενός μεν επιτυγχάνεται ασυστολία, αφετέρου δε προστατεύεται το μυοκάρδιο. Από το σημείο αυτό αρχίζει η μέτρηση της ισχαιμικής περιόδου της επέμβασης. Πρώτα εκτελούνται οι περιφερικές αναστομώσεις για τα πάσχοντα στεφανιαία αγγεία με τελευταία αυτή της αριστερής εσω θωρακικής αρτηρίας (LIMA) στον πρόσθιο κατιόντα κλάδο. Μετά εκτελούνται οι κεντρικές αναστομώσεις των φλεβικών μοσχευμάτων επι της αορτής. Όταν τελειώσει η εκτέλεση των αναστομώσεων αυτών, απελευθερώνεται η λαβίδα αποκλεισμού της αορτής, εξαερώνονται τα μοσχεύματα και αρχίζει η περίοδος επαναιμάτωσης (reperfusion). Όταν αποκατασταθούν η θερμοκρασία του αίματος και οι αιμοδυναμικές παράμετροι, τότε διακόπτεται σταδιακά η λειτουργία της συσκευής της Ε/Κ, αναστρέφεται ο ηπαρινισμός του αίματος με πρωταμίνη και αφαιρούνται οι κάνουλες. Κατόπιν επιμελούς αιμοστάσεως και τοποθέτησης σωλήνων παροχέτευσης, συγκλείεται το χειρουργικό τραύμα κατά την ανατομική του τάξη.

* **Σημείωση:** Αναφέρεται η χειρουργική τεχνική που χρησιμοποιήθηκε για τη μελέτη αυτή, ώστε να μπορεί κανείς να παρακολουθήσει την αλληλουχία των χρονικών στιγμών, έτσι όπως αναφέρονται στο πειραματικό μέρος. Αναφορά άλλων τεχνικών δεν αποτελεί αντικείμενο του παρόντος πονήματος.

4. ΑΟΡΤΟΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΠΑΡΑΚΑΜΨΗ ΧΩΡΙΣ ΤΗ ΧΡΗΣΗ Ε/Κ (OPCAB)

i. Ιστορία

Όπως έγινε εμφανές από την αναφορά στην ιστορία της στεφανιαίας χειρουργικής, η αορτοστεφανιαία παράκαμψη αρχικά εφαρμόστηκε χωρίς τη χρήση της Ε/Κ, στην χαραυγή της χειρουργικής των στεφανιαίων περί το 1961. Η ταχεία ανάπτυξη της Ε/Κ την ίδια περίοδο, περιόρισε καταλυτικά την OPCAB και για δεκαετίες έδωσε τη θέση της στην CCABG με την οποία και καθιερώθηκε η στεφανιαία χειρουργική σαν μέσο επαναιμάτωσης των στεφανιαίων σε ένα αναίμακτο και ακίνητο χειρουργικό πεδίο.²¹ Το τίμημα όμως του ακίνητου και αναίμακτου χειρουργικού πεδίου φαίνεται ότι κοστολογείται στον ασθενή, μιας και παρά τη ραγδαία τεχνολογική βελτίωση της συσκευής της Ε/Κ, δεν παύει να αποτελεί παράγοντα εκδήλωσης μιας σειράς αρνητικών συνεπειών, όπως τραυματισμό των έμμορφων στοιχείων του αίματος, ενεργοποίηση μιας σειράς φλεγμονωδών αντιδράσεων καθώς και μικροεμβολισμών λόγω αέρα ή αθηρωματικών συντριμμάτων της αορτής από τους χειρουργικούς χειρισμούς.

Η αναβίωση της OPCAB έγινε στο ξεκίνημα της δεκαετίας του '90 με την δουλειά των Benetti και Buffolo στο πεδίο αυτό. Βασικό κίνητρό τους υπήρξε η οικονομοτεχνική θεώρηση της χειρουργικής των στεφανιαίων, όμως οδήγησε σε απροσδόκητα οφέλη με την αποφυγή των αρνητικών επιπτώσεων της Ε/Κ. Ακολούθησε η βοήθεια που προσέφερε η ιατρική βιομηχανία με την παράγωγη συστημάτων έκθεσης του χειρουργικού πεδίου και ακινητοποίησης της πάλλουσας καρδιάς, με αποτέλεσμα σήμερα το 20% με 25% των επεμβάσεων να εκτελείται χωρίς τη χρήση της Ε/Κ.²¹⁻²⁷

ii. Τεχνική*

Όπως και στην CCABG, μετά την παρασκευή των μοσχευμάτων, γίνεται μερικός ηπαρινισμός του ασθενούς και αρχίζει η εκτέλεση των αναστομώνσεων.

Πρώτα εκτελούνται οι κεντρικές αναστομώνσεις των φλεβικών μοσχευμάτων που θα αναστομωθούν. Κατόπιν αρχίζει η εκτέλεση των περιφερικών αναστομώνσεων με την εξής διαδικασία: έκθεση και σταθεροποίηση του νοσούντος αγγείου, αρτηριοτομή και εισαγωγή shunt για την αποφυγή της αιμορραγίας του αγγείου και εκτέλεση της αναστόμωσης με την βοήθεια φυσητήρα CO₂ και φυσιολογικού ορού.

Ιδιαίτερης σημασίας είναι η σειρά με την οποία εκτελούνται οι περιφερικές αναστομώνσεις, λαμβάνοντας πάντα μέριμνα να προηγούνται εκείνες που αφορούν κριτικής σπουδαιότητας περιοχές.^{21,27}

* **Σημείωση:** Αναφέρεται η χειρουργική τεχνική που χρησιμοποιήθηκε για τη μελέτη αυτή, ώστε να μπορεί κανείς να παρακολουθήσει την αλληλουχία των χρονικών στιγμών, έτσι όπως αναφέρονται στο πειραματικό μέρος. Αναφορά άλλων τεχνικών δεν αποτελεί αντικείμενο του παρόντος πονήματος.

5. Ε/Κ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ **ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ (SIRS)**

“Still today, most of our postoperative problems can be related to the deleterious effects of cardiopulmonary bypass.”

John W. Kirklin, MD, 1970

Ward rounds, University of Alabama Hospital.²⁸

Παρόλη την επί μακρόν κλινική και πειραματική έρευνα, η συμμετοχή της Ε/Κ και της καρδιοπληγικής ασυστολίας στη νοσηρότητα και τη θνητότητα των καρδιοχειρουργικών επεμβάσεων παραμένει αδιευκρίνιστη.²⁹

Από ανοσολογική άποψη η καρδιοχειρουργική επέμβαση με τη χρήση της Ε/Κ αποτελεί μια ιδιαίτερη κλινική κατάσταση. Το χειρουργικό τραύμα μετά την σύνδεση του ασθενούς με την Ε/Κ, ακολουθείται από συστηματικό τραύμα.³⁰ Το τραύμα αυτό αποτελεί συνέπεια της επαφής των συστατικών του αίματος με τις μη επιθηλιωμένες επιφάνειες του κυκλώματος της Ε/Κ, της μεταβολής της σφυγμικής ροής σε συνεχή ροή κατά τη διάρκεια της Ε/Κ, της γενικευμένης ισχαιμίας κατά την καρδιοπληγική ασυστολία, καθώς και της μέτριας υποθερμίας που διατηρείται κατά τη διάρκεια της Ε/Κ. Αποτέλεσμα του συστηματικού αυτού τραύματος αποτελεί η κλινική εκδήλωση του συνδρόμου συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης (SIRS), η οποία μπορεί να κυμαίνεται από ήπιες εκδηλώσεις άνευ κλινικής σημασίας, μέχρι και την εκδήλωση αναπνευστικής ανεπάρκειας, νεφρικής ανεπάρκειας, καρδιακής ανεπάρκειας, νευρολογικών επιπτώσεων, καθώς και την εκδήλωση του συνδρόμου έκπτωσης πολλών οργάνων πολλών συστημάτων.²⁹⁻³¹ Η Ε/Κ ενεργοποιεί διάφορα στοιχεία του αίματος τα οποία ευθύνονται για τις επιπλοκές με τις οποίες ενοχοποιείται. Τα στοιχεία αυτά μπορεί να είναι διάφορα πρωτεϊνικά συστήματα ή/και διάφορα έμμορφα στοιχεία του αίματος.³² (Πίνακας 1)

Πρωτεϊνικά Συστήματα στοιχεία του αίματος	Έμμορφα
Πρωτεΐνες επαφής πλάσματος	Αιμοπετάλια
Ενδογενής πηκτικός μηχανισμός κύτταρα	Ενδοθηλιακά
Εξωγενής πηκτικός μηχανισμός	Ουδετερόφιλα
Ινωδολυτικός μηχανισμός	Μονοκύτταρα
Συμπλήρωμα	Λεμφοκύτταρα

*Πίνακας 1. Στοιχεία του αίματος τα οποία ενεργοποιούνται απο την E/K.
(Μεταφρασμένο και τροποποιημένο από HL Edmunds³²)*

Η σειρά με την οποία η E/K εκλύει τη συστηματική φλεγμονώδη αντίδραση (SIRS) έχει ως εξής:

Ενεργοποιεί το συμπλήρωμα μέσω της κλασσικής και της εναλλακτικής διαδρομής. Αυτό με την σειρά του ενεργοποιεί τα ουδετερόφιλα και απελευθερώνει κυτοκίνες. Η ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων αυξάνει τη διέγερση των ιντεγκρινών (integrins) -διαμεμβρανικοί υποδοχείς- και οι κυτοκίνες προκαλούν αυξημένη έκφραση των ενδοθηλιακών υποδοχέων, οι οποίοι λειτουργούν ως σύνδεσμοι με της ιντεγκρίνες των ουδετερόφιλων. Η αλληλεπίδραση αυτή καθλώνει τα ουδετερόφιλα στο ενδοθηλιακό τοίχωμα, διαδικασία που πυροδοτεί την απελευθέρωση κυτοτοξικών παραγώγων, όπως πρωτεολυτικών ενζύμων και ελευθέρων ριζών οξυγόνου. Τα προσκολλημένα ουδετερόφιλα (adherent neutrophils) επίσης μεταναστεύουν μέσω του ενδοθηλιακού φραγμού και έρχονται κοντύτερα στα παρεγχυματικά κύτταρα και τα κάνουν ευάλωτα στα υποπροϊόντα τους.³³ Η IL-8 θεωρείται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στη διακίνηση των ουδετερόφιλων. Η εκδήλωση της δράσης της ρυθμίζεται από τη IL-10 που έχει αντίθετη δράση.³⁴ Οι ρυθμιζόμενοι κυτταρικοί και χυμικοί αμυντικοί μηχανισμοί του οργανισμού εναντίον δυνητικά επικίνδυνων

καταστάσεων μπορεί συχνά να αποδειχθούν επικίνδυνοι για τον ίδιο τον οργανισμό, προκαλώντας εκδήλωση «υπερβάλλουσας» φλεγμονώδους αντίδρασης. Οι κλινικές συνέπειες που προκαλούνται έχουν ποικίλες διακυμάνσεις ως προς τη βαρύτητα των εκδηλώσεων.³³

Η καρδιοχειρουργική αποτελεί ένα πεδίο στο οποίο το SIRS αντιμετωπίζεται σε καθημερινή βάση. Η φλεγμονώδης αντίδραση που σχετίζεται με την Ε/Κ οφείλεται κατά κύριο λόγο στην επαφή των στοιχείων του αίματος με το κύκλωμα της Ε/Κ, την καρδιοπληγική ασυστολία και την επανακυκλοφορία του αίματος (τραύμα «Ισχαιμίας-Επαναιμάτωσης»)^{32,35,36} Τα παραπάνω προκαλούν χυμικές και κυτταρικές απαντήσεις (ενεργοποίηση του συμπληρώματος, ενεργοποίηση του πηκτικού και ινωδολυτικού μηχανισμού, ενεργοποίηση του καταρράκτη καλλικρεΐνης, ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων, των αιμοπεταλίων και των ενδοθηλιακών κυττάρων) που συμβάλλουν στην εκδήλωση του SIRS.^{37,38}

Όλα αυτά δημιουργούν συνθήκες αυξημένης διαπερατότητας της τριχοειδικής μεμβράνης με αποτέλεσμα τη συσσώρευση υγρών στο διάμεσο χώρο και ως συνέπεια αυτού, τη διαταραχή της παροχής στο επίπεδο τριχοειδών/τελικών οργάνων.^{31,35,39}

Ανεξαρτήτως όμως του εκλυτικού παράγοντα, η αντίδραση ακολουθεί πανομοιότυπο πρότυπο ενεργοποίησης μιας σειράς κυτταρικών και χυμικών διαδικασιών (pathways). Διάφορες μοριακές ενώσεις όπως το συμπλήρωμα, η βραδυκινίνη, η καλλικρεΐνη και οι κυτοκίνες έχουν ανάμειξη σε αυτές τις διαδικασίες. Συγκεκριμένες κυτοκίνες διεγείρουν τα ενδοθηλιακά κύτταρα με αποτέλεσμα τη διαταραχή διαπερατότητας του ενδοθηλίου των τριχοειδών και την εξαγγείωση λευκοκυττάρων και άλλων ουσιών που, υπό κανονικές συνθήκες, ευρίσκονται εντός του αγγειακού χώρου. Η ενεργοποίηση των προ-πηκτικών πρωτεϊνών καθώς και ινωδολυτικών ενεργοποιητών και αναστολέων στην ενδοθηλιακή επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων είναι αποτέλεσμα της

ενεργοποίησής τους και συνδέει άμεσα το SIRS με διαταραχές του ηπαιτικής μηχανισμού.^{40,41}

Καθοριστικό επίσης ρόλο στην πρόκληση του τραύματος αποτελεί η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και των λευκοκυττάρων από κυτοκίνες-μεσολαβητές.^{33,42-45}

Κατά τη διάρκεια της Ε/Κ η ενεργοποίηση του συμπληρώματος οδηγεί στον σχηματισμό προϊόντων διάσπασής του, των αναφυλατοξινών C3a και C5a. Η ενεργοποίηση των παραγόντων του συμπληρώματος αποτελεί έναυσμα για την ενεργοποίηση και την συνάθροιση των ουδετερόφιλων, προκαλώντας βλάβη του ενδοθηλίου και των παρεγχυματικών κυττάρων.^{33,46-49}

Ενεργοποίηση του παράγοντα XII συμβάλλει σε περαιτέρω ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων και την έκκριση πρωτεολυτικών ενζύμων, όπως η ελαστάση. Όσον αφορά τον αριθμό των λευκοκυττάρων κατά την Ε/Κ, μετά μια αρχική ελάττωσή τους, ακολουθεί σημαντική αύξησή τους.^{33,50,51}

Οι κυτοκίνες είναι μικρές διαλυτές πρωτεΐνες που συμμετέχουν σε μια μεγάλη ποικιλία βιολογικών διεργασιών. Εάν εξαιρέσει κανείς μερικές αντιφάσεις που προκύπτουν από την έρευνα της βιβλιογραφίας, η απελευθέρωση των προφλεγμονωδών κυτοκινών είναι ιδιαίτερης σημασίας στη χρήση της Ε/Κ. Έτσι ο Παράγοντας Νέκρωσης Όγκων-α (Tumor Necrosis Factor-α, (TNF-α)) εμφανίζει υψηλά επίπεδα στο αίμα στην αρχή της Ε/Κ ή κατ' άλλους μετά την άρση του αορτικού αποκλεισμού.^{33,34,52-54} Η IL-1 εμφανίζει άνοδο κατά τη διάρκεια των πρώτων 24 ωρών από την έναρξη της Ε/Κ. Η IL-6 και IL-8 εμφανίζουν ανοδικά επίπεδα με κορυφαίο σημείο μεταξύ 3 και 24 ωρών, ενώ σχετίζονται άμεσα με τη διάρκεια του αορτικού αποκλεισμού.^{52,55-58}

6. ΑΟΡΤΟΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΠΑΡΑΚΑΜΨΗ ΜΕ ΚΑΙ ΧΩΡΙΣ ΤΗ ΧΡΗΣΗ Ε/Κ – ΣΥΓΚΡΙΣΗ

Η αορτοστεφανιαία παράκαμψη, παρά την αναβίωση της OPCAB, εκτελείται κατά τη μεγαλύτερη πλειονότητα των περιπτώσεων με τη συμβατική τεχνική - με τη χρήση της Ε/Κ. Η κατανόηση όμως της παθοφυσιολογίας της Ε/Κ και των αρνητικών επιπτώσεων της, μαζί με τον ισχυρισμό ότι η αποφυγή της θα μείωνε τις αρνητικές κλινικές επιπτώσεις, έδωσε ένα θεωρητικό πλεονέκτημα στην OPCAB. Μια μεγάλη σειρά μελετών είναι διαθέσιμες στη διεθνή βιβλιογραφία. Αν και πολλές από αυτές καταλήγουν υπέρ της OPCAB, υπάρχει ακόμη σκεπτικισμός ως προς την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητά της, πιθανόν λόγω των υψηλότερων δεξιοτήτων που απαιτεί η χρήση της. Στην εποχή όμως της Τεκμηριωμένης Ιατρικής (Evidence-based Medicine) τον ασφαλέστερο τρόπο αξιολόγησης θεραπευτικών μεθόδων αποτελεί η ανάλυση αποτελεσμάτων από τυχαιοποιημένες συγκριτικές μελέτες (RCTs).^{25,59}

Από την ανάλυση των στοιχείων των καλύτερα σχεδιασμένων RCTs, φαίνεται ότι η OPCAB σε σύγκριση με την CCABG σχετίζεται με χαμηλότερη θνητότητα, παρόμοια βατότητα των μοσχευμάτων και χαμηλότερο κόστος.²⁵ (Πίνακας 2) Επειδή όμως η διεξοδική ανάλυση των μελετών ξεφεύγει από τον σκοπό του παρόντος πονήματος, θα αναφερθούμε μόνο σε ότι σχετίζεται με την παρούσα μελέτη.

Ταξινόμηση των διαθέσιμων στοιχείων για την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια των επεμβάσεων OPCAB.		
Επιπλοκές	Συμπέρασμα	Βαθμός Σύστασης Αξιολόγησης - Επίπεδο Αποδεικτικών Στοιχείων Αξιολόγησης*
SIRS	Ελάττωση εμφάνισης	A/ 1c
Απώλεια αίματος και ανάγκη μετάγγισης	Ελάττωση εμφάνισης	A/ 1a
Νεφρική ανεπάρκεια	Ελάττωση εμφάνισης	A/ 1c
Μυοκαρδιακή δυσλειτουργία	Ελάττωση εμφάνισης μυοκαρδιακής βλάβης, μυοκαρδιακού εμφράγματος και ανάγκης υποστήριξης με ινότροπα	A/ 1a
Κολπική Μαρμαρυγή	Ελάττωση εμφάνισης	A/ 1a
Ψυχοκινητικές διαταραχές και εγκεφαλική δυσλειτουργία	Ελάττωση εμφάνισης.	A/ 1c
Αναπνευστική ανεπάρκεια	Ελάττωση εμφάνισης.	A/ 1c
Επιπλοκές απο το Γαστρεντερικό	Ελάττωση εμφάνισης.	A/ 1c
Διάρκεια παραμονής στο Νοσοκομείο / Θνητότητα	Ελάττωση	A/ 1a
Οικονομικό κόστος	Ελάττωση	A/ 1c
Βατότητα μοσχευμάτων	Συγκρίσιμα αποτελέσματα με την CCABG	A/ 1c
Ποιότητα ζωής	Συγκρίσιμα αποτελέσματα με την CCABG	A/ 1c

* Βαθμός Σύστασης Αξιολόγησης / Επίπεδο Αποδεικτικών Στοιχείων Αξιολόγησης σύμφωνα με την Ταξινόμηση της Οξφόρδης για την Τεκμηριωμένη Ιατρική

Πίνακας 2. Ταξινόμηση των διαθέσιμων στοιχείων για την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια των επεμβάσεων OPCAB. (Μεταφρασμένο και τροποποιημένο από SG Raja²⁵)

ι. Συστηματική Φλεγμονώδης Αντίδραση σε Αορτοστεφανιαία παράκαμψη με και χωρίς τη χρήση Ε/Κ

Γενικότητες

Παρόλες τις προόδους που αφορούν στους τομείς της αναισθησίας, της Ε/Κ και της χειρουργικής τεχνικής, η Ε/Κ συνεχίζει να ενοχοποιείται ως εκλυτικός μηχανισμός του SIRS, που οδηγεί σε αυξημένη μετεγχειρητική νοσηρότητα.

Στην προσπάθεια περιορισμού της έκλυσης αυτής της αντίδρασης χρησιμοποιήθηκαν διάφορες τεχνικές που αφορούν την Ε/Κ (καλυμμένα με ηπαρίνη κυκλώματα, τα φίλτρα λευκαφαίρεσης και τα ελαχιστοποιημένα κυκλώματα Ε/Κ - MECC), διάφοροι φαρμακευτικοί παράγοντες (χορήγηση απροτινίνης και περιεγχειρητικών ώσεων κορτικοστεροειδών), αλλά και χειρουργικές τεχνικές, όπως η OPCAB.⁶⁰

Η OPCAB λοιπόν, εκτός από τα κοινωνικο-οικονομικά κίνητρα, βρήκε ευρεία αποδοχή διότι η αποφυγή της Ε/Κ συνδυάζονταν με τη θεωρητική τουλάχιστον υπόθεση του περιορισμού του τραύματος «Ισχαιμίας/Επαναιμάτωσης» (περίοδος καρδιοπληγικής ασυστολίας) και του περιορισμού του SIRS λόγω Ε/Κ.

Αν και από τη βιβλιογραφία εύκολα διαφαίνεται ότι το τραύμα «ισχαιμίας/επαναιμάτωσης» είναι σημαντικό περιορισμένο στην OPCAB, δεν συμβαίνει το ίδιο με το SIRS που οφείλεται στην Ε/Κ.

Αυτό ως προς ένα μέρος θα μπορούσε να αποδοθεί στη μεθοδολογία των μελετών αλλά και στην πολυπαραγοντικότητα των εκλυτικών αιτιών καθώς και την ποικιλία των διαφοροποιήσεων με την οποία μπορεί να εκτελείται η κάθε μια τεχνική, καθώς και μια σειρά φαρμακευτικών παρεμβάσεων (πρωτόκολλο ηπαρίνης, χρήση απροτινίνης, κλπ) που επηρεάζουν τα αποτελέσματα.³⁴

Ρόλο ακόμη παίζει και το μέγεθος του χειρουργικού τραύματος, καθώς η OPCAB πολλές φορές εκτελείται με ελάχιστα επεμβατική προσπέλαση.

Το χειρουργικό τραύμα πέρα από την ενεργοποίηση του συμπληρώματος σχετίζεται και με την IL-6. Αυτή αποτελεί κυτοκίνη οξείας φάσης και αυξάνεται άμεσα μετά τη στερνοτομή σε επίπεδα υψηλότερα από αυτά της θωρακοτομής. Η σταθερή αναφορά στη βιβλιογραφία ότι τα επίπεδα IL-6 δεν διαφέρουν μεταξύ CCABG και OPCAB, φανερώνει ποσό σημαντικό ρόλο παίζει στην έκλυσή της το χειρουργικό τραύμα. Όσο δε αφορά την IL-8 δεν έχει μόνο ανάμειξη στη διακίνηση των ουδετερόφιλων αλλά φαίνεται ότι συμμετέχει στο τραύμα «ισχαιμίας» του μυοκαρδίου. Η απελευθέρωσή της σχετίζεται με το τραύμα «Ισχαιμίας/Επαναιματώσης» και συνοδεύεται με αύξηση των επιπέδων Tg-I στο πλάσμα.⁶¹

Από μεγάλες RCTs όμως βγάζουμε το συμπέρασμα ότι παρά το γεγονός ότι το χειρουργικό τραύμα μεταξύ των CCABG και OPCAB είναι συνήθως παρόμοιο, το SIRS που προκαλείται με την OPCAB είναι σημαντικά μικρότερο από εκείνο που εμφανίζεται στην CCABG - χωρίς αυτό να σημαίνει ότι το SIRS μηδενίζεται χωρίς τη χρήση της Ε/Κ.²⁵ (Πινάκας 3)

Στους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς που πυροδοτούν το SIRS και σχετίζονται με την Ε/Κ περιλαμβάνονται: η ενεργοποίηση του συμπληρώματος και των λευκοκυττάρων, η απελευθέρωση προ-φλεγμονωδών κυτοκινών, αλλαγές του μεταβολισμού του Νιτρικού Οξέως (Nitric Oxide, (NO)) και η παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου, που με τη σειρά τους οδηγούν σε οξειδωτικό στρες.⁶²

Η επίπτωση του OPCAB στη Συστηματική Φλεγμονώδη Αντίδραση			
Ερευνητές	CCAB G (n)	OPCAB (n)	Αποτέλεσμα
Wan. et al. 2004	19	18	Σημαντικά υψηλότερα επίπεδα IL-10, IL-6, IL-8, TNFa and VCAM-1 στην ομάδα CCABG
Velissaris. et al. 2004	26	26	Συγκρίσιμη απελευθέρωση Cortisol και Vasopressin σε χαμηλού κινδύνου ασθενείς και στις δυο Ομάδες.
Wehlin, et al. 2004	16	21	Μειωμένη ενεργοποίηση του Συμπληρώματος σε χαμηλού κινδύνου ασθενείς στην ομάδα OPCAB.
Dorman, et al. 2004	25	25	Σημαντικά υψηλότερα επίπεδα Ενδοθηλίνης στην ομάδα CCABG
Johansson -Synnergen, et al.2004	26	26	Μειωμένη ενεργοποίηση του Συμπληρώματος στην ομάδα OPCAB, χωρίς να επηρεάζεται η απελευθέρωση των TNF-a και IL-8 , ούτε και η ενδοθηλιακή λειτουργία
Al-Ruzzeh, et al. 2004	10	10	Μειωμένη ενεργοποίηση των Ουδετεροφίλων σε χαμηλού κινδύνου ασθενείς στην ομάδα OPCAB
Jemielity et al. 2003	25	25	Σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα IL-6 στην ομάδα OPCAB / Σημαντικά υψηλότερα CRP στην ομάδα CCABG
Aydin, et al. 2003	15	15	Σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα Ενδοτοξίνης και Γαλακτικών στην ομάδα OPCAB.
Wildhirt, et al. 2001	13	13	Σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα εκφρασης των καρδιακών και συστηματικών μορίων συγκόλλησης στην ομάδα OPCAB.
Schulze, et al. 2000	13	13	Σημαντικά υψηλότερα επίπεδα του συστήματος TNF και sIL-2r στην ομάδα CCABG / Συγκρίσιμες μεταβολές στα επίπεδα IL-6 Σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα CRP και total nitrate/nitrite στην ομάδα OPCAB
Czerny, et al. 2000	16	14	Σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα IL-10, P-selectin, ICAM-1, myoglobin, CK-MB και troponin I στην ομάδα OPCAB.
Ascione, el al. 2000	30	30	Αυξημένη ενεργοποίηση της ελασάσης των ουδετεροφίλων, των επιπέδων IL-8, λευκοκυττάρων και εμφάνισης OEM στην ομάδα CCABG
Diegeler, et al. 2000	10	20 ^b	Αυξημένη απελευθέρωση C3d, C5a, IL-8 IL-10, and TNF-a receptors p55 and p75 στην ομάδα CCABG
Matata, et al. 2000	10	10	Σημαντική αύξηση της lipid H ₂ O ₂ , των πρωτεϊνών carbonyls, nitrotyrosine, των επιπέδων IL-8, της ενεργοποίησης του C3a, και της sE-selectin στην ομάδα CCABG.
Gu, et al. 1998	31	31 ^c	Αυξημένη ενεργοποίηση της ελασάσης των λευκοκυττάρων, Αυξημένα επίπεδα αιμοπεταλίων, b-thromboglobulin και C3a

AGP = acid glycoprotein; C3a, C3d, C5a = complement components; CABG = coronary artery bypass grafting; CK-MB = MB isoenzyme of creatine kinase; CPB = cardiopulmonary bypass; CRP = C-reactive protein; ET = endothelin; H₂O₂= hydroperoxides; ICAM-1 = intercellular adhesion molecule-1; IL = interleukin; LAT = left anterior thoracotomy; MIDCAB = minimally invasive direct coronary artery bypass; OPCAB = off-pump coronary artery bypass surgery; sE-selectin = soluble E-selectin; sIL-2r = soluble interleukin-2 receptor; TNF = tumor necrosis factor; VCAM-1 = vascular cell adhesion molecule-1; WBC = white blood cell.

Πίνακας 3. Ταξινόμηση των διαθέσιμων στοιχείων για την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια των επεμβάσεων OPCAB. (Μεταφρασμένο και τροποποιημένο από SG Raja²⁵)

Ενεργοποίηση του συμπληρώματος (C).

Η Ε/Κ προκαλεί την ενεργοποίηση του συμπληρώματος C μέσω της εναλλακτικής διαδρομής που οφείλεται στην επαφή του αίματος με τις επιφάνειες του κυκλώματος, αλλά και μέσω της κλασσικής διαδρομής από το σύμπλεγμα ηπαρίνης-πρωταμίνης. Η ενεργοποίηση του συμπληρώματος C έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή μεσολαβητών φλεγμονής. Είναι τεκμηριωμένο ότι μισή με δυο ώρες μετά την επέμβαση τα επίπεδα C3a και C5a είναι αυξημένα στο αίμα σε CCABG και OPCAB. Όμως στην ομάδα OPCAB σε πολύ χαμηλότερο ποσοστό από την CCABG. Όσον αφορά το C3a, σύγχρονες μελέτες βρήκαν σημαντική διάφορα μεταξύ των δύο μεθόδων, ενώ το αντίθετο συμβαίνει σε σχέση με το C5a.^{31,60,60,62-64}

Το χειρουργικό τραύμα αποτελεί την ισχυρότερη αιτία ενεργοποίησης του συμπληρώματος. Η συγκέντρωση των C3a και C5b9 εμφανίζεται σημαντικά μεγαλύτερη μετά από στερνοτομή σε σχέση με θωρακοτομή.⁶⁵

Επιπλέον η αναστροφή της ηπαρίνης στο τέλος της επέμβασης ενεργοποιεί το συμπλήρωμα δια της κλασσικής διαδρομής μέσω των συμπλεγμάτων ηπαρίνης/πρωταμίνης.⁶⁶

Κυτοκίνες [Ιντερλευκίνες (IL-6 και IL-8) – Παράγοντας Νέκρωσης Όγκου-α (TNF-α)]

Η απελευθέρωση των κυτοκινών πυροδοτείται από διάφορα ερεθίσματα. Μεταξύ αυτών είναι η συνεχής ροή του αίματος κατά την Ε/Κ καθώς και το οξειδωτικό στρες. Οι κυτοκίνες επηρεάζουν την αιμοδυναμική σταθερότητα, συμβάλουν στη μυοκαρδιακή αποπληξία (stunning), στη δυσλειτουργία των νεφρών και των πνευμόνων και μπορεί να οδηγήσουν σε ανεπάρκεια πολλών οργάνων πολλών συστημάτων, λόγω SIRS. Πολλές μελέτες τεκμηριώνουν τα υψηλά επίπεδα κυτοκινών μετά από Ε/Κ. Οι Hennein et al αναφέρουν συσχέτισμό μεταξύ των IL-6 και IL-8 και τμηματικών τοιχωματικών διαταραχών κινητικότητας. Επίσης

αναφέρουν συσχέτιση της διάρκειας του αορτικού αποκλεισμού ως ανεξάρτητου προδιαθεσικού παράγοντα για την άνοδο των επιπέδων των κυτοκινών στο πλάσμα του αίματος.⁵² Τα επαγόμενα αρνητικά αποτελέσματα της παραγωγής κυτοκινών περιορίζονται από την IL-10 η οποία έχει αντιφλεγμονώδη δράση. Η παραγωγή της σχετίζεται με τη χορήγηση κορτικοστεροειδών καθώς και με αυξημένη προστασία καρδιάς και πνευμόνων.⁶⁷

Σύγχρονες μελέτες δείχνουν ότι αποφεύγοντας την χρήση της Ε/Κ ελαττώνεται η έκλυση κυτοκινών και έτσι προστατεύεται η καρδιά.^{31,52,61,68-70}

Οι Schulze et al⁷⁰ σε τυχαίοποιημένη μελέτη συνέκριναν τα επίπεδα των κυτοκινών σε επεμβάσεις CCABG και OPCAB και βρήκαν ότι και στις δυο μεθόδους υπάρχει αύξηση των επιπέδων τους, με υπεροχή αυτών στην ομάδα CCABG.

Οι Matata et al⁶² σε άλλη τυχαίοποιημένη μελέτη δεν βρήκαν υψηλα επίπεδα κυτοκινών σε επεμβάσεις OPCAB, ενώ τα επίπεδά τους στην ομάδα CCABG φτάνουν σε υψηλα επίπεδα στις 48 ώρες μετεγχειρητικά. Τη διάφορα αυτή των αποτελεσμάτων τους σε σχέση με την προηγούμενη μελέτη την ερμηνεύουν με το γεγονός ότι οι ασθενείς τους χειρουργήθηκαν με τη χρήση Ε/Κ, αλλά χωρίς αποκλεισμό της αορτής. Στη χειρουργική αυτή μέθοδο φαίνεται ότι η επίδραση του τραύματος «Ισχαιμίας/Επαναιμάτωσης» αποτελεί μικρότερο ερέθισμα από ό,τι αυτό της φλεγμονώδους αντίδρασης.^{62,63}

Οι Wan et al⁶¹, σε μια σειρά 44 ασθενών που χειρουργήθηκαν τυχαίοποιημένα με μια από τις δυο μεθόδους, βρήκαν ότι στην ομάδα OPCAB η απελευθέρωση των IL-6 και IL-8 ήταν σημαντικά μικρότερη από την ομάδα CCABG.

Το χειρουργικό τραύμα πέρα από την ενεργοποίηση του συμπληρώματος σχετίζεται και με την IL-6. Αυτή αποτελεί κυτοκίνη οξείας φάσης και αυξάνεται άμεσα μετά τη στερνοτομή σε επίπεδα υψηλότερα από αυτά της θωρακοτομής.⁶⁵

Η σταθερή αναφορά στη βιβλιογραφία ότι τα επίπεδα IL-6 δεν διαφέρουν μεταξύ CCABG και OPCAB, φανερώνει ποσό σημαντικό ρόλο παίζει στην έκλυσή της το χειρουργικό τραύμα.³⁴

Όσο δε αφορά την IL-8 δεν έχει μόνο ανάμειξη στη διακίνηση των ουδετερόφιλων, αλλά φαίνεται ότι συμμετέχει στο τραύμα «Ισχαιμίας/Επαναιμάτωσης» του μυοκαρδίου και συνοδεύεται με αύξηση των επιπέδων Tr-I στο πλάσμα.⁶¹

Οι επεμβάσεις CCABG φαίνεται ότι σχετίζονται με αυξημένη απελευθέρωση της IL-10, ιντερλευκίνης με αντιφλεγμονώδη δράση.^{61,71,72}

Ενεργοποίηση λευκοκυττάρων και αιμοπεταλίων.

Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και των λευκοκυττάρων παίζει σημαντικό ρόλο στη διεργασία της φλεγμονής. Αυτά ενεργοποιούνται από προφλεγμονώδεις μεσολαβητές όπως το συμπλήρωμα, οι ιντερλευκίνες IL-6 και IL-8, η θρομβίνη κ.α.^{32,73,74} Στις καρδιοχειρουργικές επεμβάσεις με τη χρήση της Ε/Κ, η επαφή του αίματος με τις επιφάνειες του κυκλώματος και του οξυγονωτή αποτελούν αιτίες ενεργοποίησής τους. Είναι γνωστό ότι η ενεργοποίησή τους και η διήθηση των ουδετερόφιλων στο μυοκάρδιο, μετά την άρση του αορτικού αποκλεισμού, αποτελούν αιτία του τραύματος «Ισχαιμίας/Επαναιμάτωσης». Τα λευκοκύτταρα δεν συσσωρεύονται μόνο στο μυοκάρδιο αλλά και στους πνεύμονες. Η συσσώρευση αυτή φαίνεται να σχετίζεται με τη διάρκεια του αποκλεισμού της αορτής, αλλά και με όλη τη διάρκεια της Ε/Κ.^{31,75,76}

Οι Casati V et al⁷⁷ ερευνώντας τον πηκτικό μηχανισμό και την ινωδόλυση σε CCABG και OPCAB αναφέρουν σημαντικές μεταβολές. Έτσι στην CCABG παρατηρείται μείωση του αριθμού των αιμοπεταλίων και των επιπέδων πλασμινογόνου, γεγονός το οποίο συνοδεύεται από αύξηση του επιπέδου των

D-dimers. Οι παρατηρήσεις αυτές δεν διατηρούνται πέραν των 24 ωρών από την επέμβαση.

Οξειδωτικό στρες.

Αυτό αποτελεί τη διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ αντιοξειδωτικών μηχανισμών του οργανισμού και τις δημιουργίες αντιδραστικών σειρών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species, ROS). Η επαναιμάτωση του μυοκαρδίου αποτελεί εκλυτικό μηχανισμό. Οι επεμβάσεις OPCAB χαρακτηρίζονται από χαμηλότερου βαθμού οξειδωτικό στρες από τις CCABG. Αν και η έκρηξη του οξειδωτικού στρες σχετίζεται με τη κατάσταση «Ισχαιμίας/Επακυκλοφορίας» του μυοκαρδίου, η Ε/Κ αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου.^{62,63,78-80}

Όπως φαίνεται στην προοπτική και τυχαιοποιημένη έρευνα των Matata et al⁶² οι ασθενείς της ομάδος OPCAB παρουσιάζουν χαμηλότερα επίπεδα δεικτών οξειδωτικού στρες από τα αντίστοιχα της ομάδος CCABG. Η διαφοροποίηση και αξία της μελέτης αυτής είναι το γεγονός ότι η ομάδα έλεγχου CCABG χειρουργήθηκε χωρίς αποκλεισμό αορτής (με Ε/Κ αλλά πάλλουσα καρδιά) ενώ στις μέχρι τώρα μελέτες η ομάδα έλεγχου ήταν CCABG (με Ε/Κ και αποκλεισμό αορτής). Έτσι στην μελέτη αυτή απομονώνονται οι δύο εκλυτικοί παράγοντες SIRS, η Ε/Κ και η κατάσταση «Ισχαιμίας/Επαναιμάτωσης».

ii. Μυοκαρδιακό τραύμα σε Αορτοστεφανιαία παράκαμψη με και χωρίς τη χρήση Ε/Κ

Η αορτοστεφανιαία παράκαμψη με τη χρήση Ε/Κ (CCABG) σχετίζεται ως γνωστόν με περίοδο καρδιοπληγικής ασυστολίας κατά την οποία η γενικευμένη μυοκαρδιακή ισχαιμία εκφράζεται με αύξηση των επιπέδων των δεικτών μυοκαρδιακού τραύματος (CK-MB, Tt-I).

Η σημαντική μείωση της μετεγχειρητικής συγκέντρωσης των καρδιακών ενζύμων (CK-MB, Tr-T, Tr-I) στην OPCAB σε σύγκριση με την CCABG, σε ανεπίπλεκτες επεμβάσεις, αποτελεί σταθερό εύρημα στη βιβλιογραφία.^{71,81}

Ακόμη και σε χειρουργική με πάλλουσα καρδιά χωρίς αορτικό αποκλεισμό, ο παροδικός αποκλεισμός του αγγείου προκαλεί αύξηση των επιπέδων των γαλακτικών που μετρώνται στο στεφανιαίο κόλπο την ώρα της επαναιμάτωσης.⁸²

Η παρατήρηση όμως αυτή δεν συσχετίζεται ούτε με κάποια ηλεκτροκαρδιογραφική μεταβολή, αλλά ούτε και με κάποια αύξηση των αναγκών σε ινότροπη υποστήριξη.

Το μυοκαρδιακό οίδημα μαζί με την χαλαρή διάταση της καρδιάς που βρίσκεται σε καρδιοπληγική ασυστολία μειώνουν τη μυοκαρδιακή συσταλτικότητα. Επιπροσθέτως, εάν η μυοκαρδιακή συσταλτικότητα είναι μειωμένη, το αυξημένο προφορτίο και μεταφορτίο κατά τον απογαλακτισμό από την Ε/Κ αυξάνει την τοιχωματική τάση και την κατανάλωση οξυγόνου.

Όλοι οι παραπάνω παράγοντες προδιαθέτουν σε καρδιακή δυσλειτουργία.^{25,83}

Πιο πρόσφατα οι Selvanayagam et al με τη χρήση της MRI αναφέρουν ότι οι επεμβάσεις OPCAB χαρακτηρίζονται από μικρότερο μυοκαρδιακό τραύμα.^{84,85}

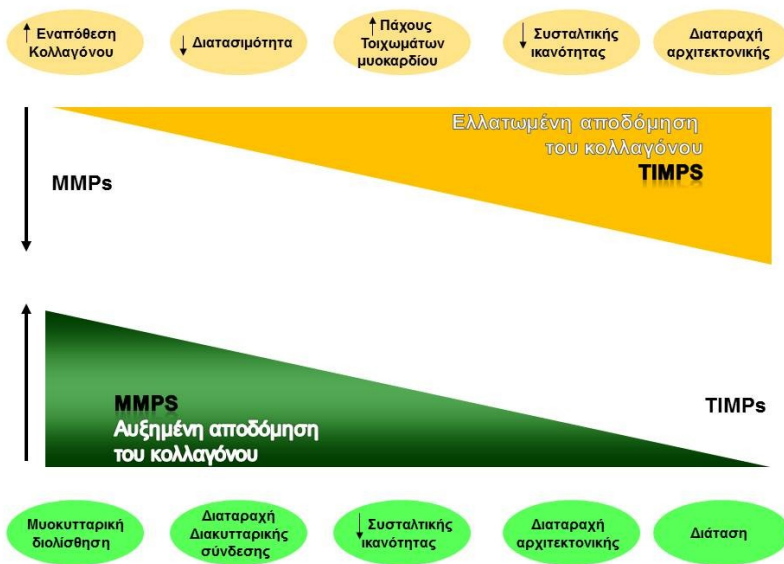
7. ΜΕΤΑΛΛΟΠΡΩΤΕΪΝΑΣΕΣ (MATRIX METALLOPROTEINASES, MMPS)

i. Κολλαγόνο – Καρδιακή λειτουργία - MMPs

Η καρδιά αποτελείται, από το μυοκάρδιο πού καταλαμβάνει το 90%, και από το έξωκυττάριο δίκτυο/χώρο (extracellular matrix, network), πού κατέχει ένα όχι ευκαταφρόνητο 10%. Το πιο ενδιαφέρον σημείο όμως από κυτταρική άποψη είναι ότι η καρδιά αποτελείται σε ποσοστό μόλις 25-30% από μυοκύτταρα, ενώ οι

ινοβλάστες και τα άλλα κύτταρα του συνδετικού ιστού αποτελούν περίπου το 60%. Μία άλλη παρατήρηση πού ανέδειξε το έξωκυττάριο δίκτυο ως ισάξιο του μυοκυττάρου, ως παράγοντα ρύθμισης της καρδιακής συσταλτικότητας και της παθοφυσιολογίας της καρδιακής ανεπάρκειας, είναι ή παραδοχή από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO) ότι καρδιακές δομικές/ανατομικές ανωμαλίες είναι δυνατόν να οδηγήσουν σε δυσλειτουργία του μυοκαρδίου. Πιο συγκεκριμένα, μοριακές και δομικές μεταβολές στο σύμπλεγμα δυστροφίνης-δυστρογλυκάνης-λαμίνινης, πού συνδέει τον κυτταρικό σκελετό με το έξωκυττάριο δίκτυο, είναι δυνατόν να οδηγήσουν σε φαινότυπο μυοκαρδιοπάθειας. Έτσι κατά την τελευταία διετία, το έξωκυττάριο δίκτυο αναδείχθηκε ως παράγοντας εξίσου σημαντικός με το καρδιακό μυοκύτταρο. Θεωρείται ως ένα δυναμικά μεταβαλλόμενο περιβάλλον, ιδιαίτερα ευαίσθητο και ανταποκρινόμενο σε μεγάλο εύρος ερεθισμάτων και τελικά αποτελεί ένα σημαντικό συνεργάτη του μυοκυττάρου στη ρύθμιση της καρδιακής συσταλτικότητας.

Η σημαντικότερη συνιστώσα πού καθορίζει το μεταβολισμό του έξωκυττάρου δικτύου είναι ή ομοιόσταση του κολλαγόνου. Η ομοιόσταση του κολλαγόνου με τη σειρά της καθορίζεται από τον τρόπο σύνθεσής του καθώς και τη διαδικασία αποδόμησής του. Το κολλαγόνο του καρδιακού ιστού παράγεται από τούς ινοβλάστες. Η αποδόμηση του κολλαγόνου καθορίζεται από την ισορροπία μεταξύ των δύο μεγάλων κατηγοριών πρωτεϊνικών μορίων, των μεταλλοπρωτεϊνολυτικών (MMPs), πού διαθέτουν την ικανότητα αποδόμησης ινών κολλαγόνου, και των ιστικών αναστολέων των MMPs (TIMPs). (Σχήμα 3)



Σχήμα 3. Ο μεταβολισμός του κολλαγόνου εξαρτάται από την Ισορροπία μεταξύ δυό οικογενειών πρωτεϊνικών μορίων, των μεταλλοπρωτεϊνάσων και τους ιστικών αναστολέων τους (Τροποποιημένο από Libby P, Lee RT⁸⁶)

Η αύξηση της έκφρασης ή της δραστηριότητας των μεταλλοπρωτεϊνάσων οδηγεί σε αυξημένη πρωτεολυτική δραστηριότητα στο εξωκυττάριο δίκτυο, στην αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας και τέλος, στη λέπτυνση των τοιχωμάτων και τη διάτασή της. Ελάττωση της έκφρασης ή της δραστηριότητας των TIMPs έχει ανάλογα αποτελέσματα. Από την άλλη πλευρά, ελάττωση της έκφρασης ή της δραστηριότητας των μεταλλοπρωτεϊνάσων οδηγεί σε αντίθετα αποτελέσματα, όπως είναι ο ελαττωμένος ρυθμός μεταβολισμού της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και τελικά η ίνωση και η μείωση της διατασιμότητας του μυοκαρδίου. Παρόμοια αποτελέσματα έχει ή αύξηση των επιπέδων ή της δραστηριότητας των ιστικών αναστολέων των μεταλλοπρωτεϊνάσων.

ii. MMPs - Γενικότητες

Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες ή μεταλλοπρωτεϊνάσες του εξωκυττάριου στρώματος (extracellular matrix metalloproteinases, matrix metalloproteinases - MMPs) αποτελούν μια οικογένεια ενζύμων (ενδοπεπτιδάσων) που έχουν πρωτεολυτική δράση έναντι συστατικών του εξωκυττάριου στρώματος, όπως της ελαστίνης, των πρωτεογλυκανών και του κολλαγόνου. Κοινό μορφολογικό τους χαρακτηριστικό, που τις κάνει να ξεχωρίζουν από τις λοιπές ενδοπεπτιδάσες, είναι ότι διαθέτουν στην καταλυτική τους περιοχή ιόντα ψευδάργυρου (Zn^{+2}) ή/ και ασβεστίου (Ca^{+2}), τα οποία είναι απαραίτητα για τη δραστηριότητα και έκφραση των MMPs.

Κοινά λειτουργικά τους χαρακτηριστικά είναι ότι δρουν έξωκυτταρίως και έχουν την ικανότητα να αποδομούν όλα τα συστατικά της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας σε ουδέτερο pH. Οι MMPs μπορούν να αποικοδομήσουν όλων των ειδών τις εξωκυττάριας δομικές πρωτεΐνες, ενώ μπορούν επίσης να επεξεργασθούν και ορισμένα βιοενεργά μόρια. Είναι γνωστό ότι εμπλέκονται στον διαχωρισμό των επιφανειακών κυτταρικών υποδοχέων, στην απελευθέρωση των αποπτωτικών προσδετών (όπως του προσδέτη του Fas, Apoptosis Stimulating Fragment) και στην ενεργοποίηση/απενεργοποίηση των κυτοκινών.

Οι MMPs συμμετέχουν στην ιστική αναδιαμόρφωση κατά τη διάρκεια φυσιολογικών διαδικασιών, όπως είναι η εμβρυϊκή μορφογένεση και οργανογένεση, η επούλωση των τραυμάτων και η αγγειογένεση. Επίσης, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και εξέλιξη παθολογικών διαδικασιών όπως είναι η φλεγμονή, η εξάπλωση των καρκινικών κυττάρων, η καταστροφή ιστών στις αυτοάνοσες αντιδράσεις και η ρήξη αθηροσκληρωτικής πλάκας.^{87,88} (Πίνακας 4)

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ	ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ	ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΕΣ
Αγγειογένεση	Καρκίνος και μετάσταση	Αθηροσκλήρυνση
Ωορρηξία	Αρθρίτιδα	Ανεύρυσμα
Εμβρυική ανάπτυξη	Σκλήρυνση κατά πλάκας	Μυοκαρδιοπάθεια
Αναπαραγωγή	Ενδοτοξιναιμία	Έμφραγμα μυοκαρδίου
Λύση και αναδιαμόρφωση ιστών	Νόσος του Alzheimer	Συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια
Επούλωση τραυμάτων	Περιοδοντίτιδα	
Μορφογένεση	Κίρρωση	
Οστική αναδιαμόρφωση		

Πίνακας 4. Καταστάσεις στις οποίες συμμετέχουν οι μεταλλοπρωτεΐνάσες.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η ρύθμιση της δραστηριότητας των ενζύμων αυτών, η οποία γίνεται σε τρία επίπεδα: στο επίπεδο της μετάφρασης-μεταγραφής των υπεύθυνων για την παραγωγή τους γονιδίων, στο επίπεδο της ενεργοποίησης των ανενεργών μορφών καθώς και στο επίπεδο της αναστολής της πρωτεολυτικής τους δραστηριότητας.

iii. Κατηγοριοποίηση

Μέχρι σήμερα έχουν ανακαλυφθεί περί τις 24 μεταλλοπρωτεΐνάσες, οι οποίες έχουν μεταξύ τους μεγάλη δομική συγγένεια. Η οικογένεια των μεταλλοπρωτεϊνών μπορεί να χωριστεί σε 4 υποομάδες με βάση κυρίως την ειδικότητα τους ως προς το υπόστρωμα και δευτερευόντως την κυτταρική τοποθεσία τους. Οι υποομάδες αυτές είναι οι κολλαγόνασες, οι ζελατινάσες, οι στρωμολυσίνες και οι μεμβρανικού τύπου μεταλλοπρωτεΐνάσες (MT-MMP) (Πίνακας 5). Οι κολλαγόνασες περιλαμβάνουν τις MMP-1, MMP-8 και MMP-13 και αποικοδομούν τα τριπλής-έλικας κολλαγόνα (τύπου I, II και III) με τελικό προϊόν τις ζελατινάσες. Τα κολλαγόνα αυτά είναι τα κύρια συστατικά των οστών και των

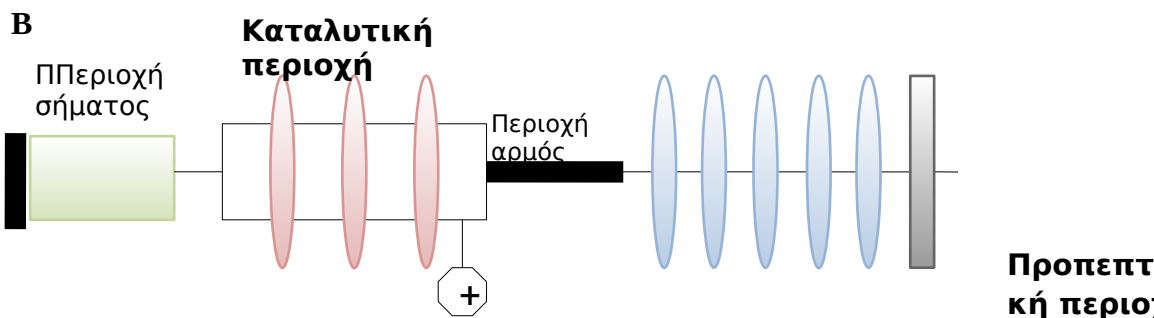
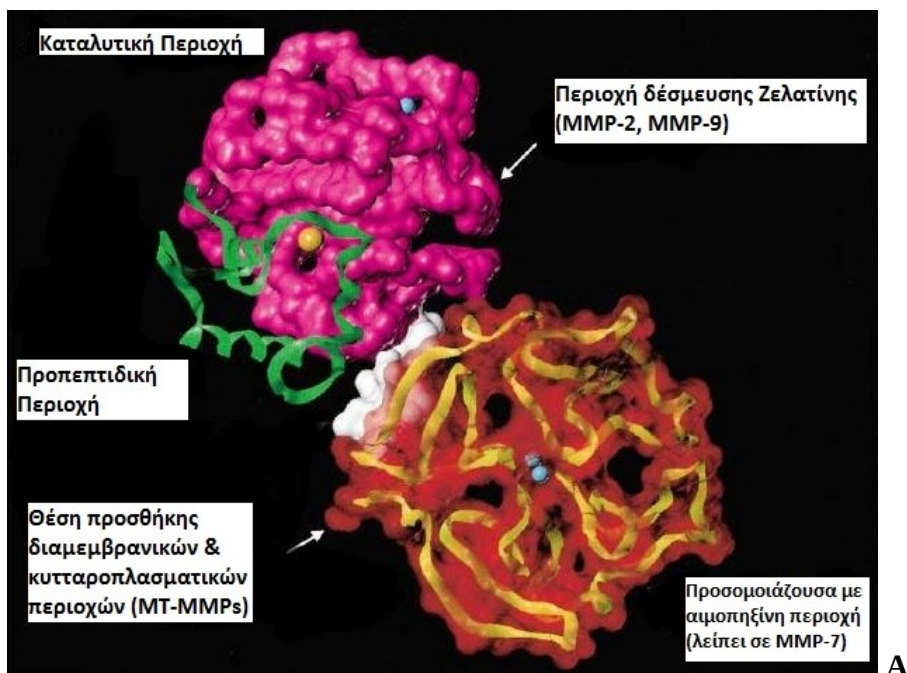
χόνδρων και λόγω της δομής τους είναι εξαιρετικά ανθεκτικά και δε διασπώνται από τις περισσότερες πρωτεϊνάσες. Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες είναι τα μόνα γνωστά ένζυμα των θηλαστικών που είναι ικανά να τα αποικοδομούν. Οι ζελατινάσες περιλαμβάνουν τις MMP-2 και MMP-9 και έχουν ως κύρια υποστρώματα τις ζελατίνες καθώς και το τύπου IV κολλαγόνο. Τα ένζυμα αυτά διακρίνονται από την παρουσία μιας πρόσθετης περιοχής μέσα στην καταλυτική περιοχή, που είναι η περιοχή πρόσδεσης της ζελατίνης. Οι στρωμολυσίνες (MMP-3, MMP-10, MMP-11), ονομάζονται έτσι επειδή είναι ενεργές έναντι ενός ευρέος φάσματος συστατικών του εξωκυττάριου στρώματος, που περιλαμβάνει της πρωτεογλυκάνες, τις λαμινίνες, τη φμπρονεκτίνη, τη βιτρονεκτίνη και κάποιους τύπους κολλαγόνου, αλλά δεν έχουν την ικανότητα να αποικοδομούν τα κολλαγόνα τριπλής έλικας. Οι μεμβρανικού τύπου μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMP-14, -15, -16, -17, -24 και -25), έχουν ένα τμήμα μέσω του οποίου είναι μόνιμα προσκολλημένες στην κυτταρική μεμβράνη, διασπών διάφορα συστατικά του εξωκυτταρικού στρώματος, καθώς επίσης είναι ικανές να ενεργοποιούν και άλλες μεταλλοπρωτεϊνάσες. Πάντως, θα πρέπει να τονιστεί ότι αυτές οι κατατάξεις είναι κάπως τεχνικές και υπάρχει ένας αριθμός μεταλλοπρωτεϊνάσων που δεν ανήκει ευκρινώς σε κάποια από τις υποομάδες.⁸⁷⁻⁹¹

ENZΥΜΟ	MMP	ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ
Κολλαγενάσες		
Διάμεση	MMP-1	Κολλαγόνο I, II, III, VII, X, ζελατίνη, εντακτίνη, αγρεκάνη
Ουδετερόφιλη	MMP-8	Κολλαγόνο I, II, III
Κολλαγενάση-3	MMP-13	Κολλαγόνο I, II, III, ζελατίνη, φιμπρονεκτίνη, λαμινίνη, τενασκίνη-C
Κολλαγενάση-4	MMP-18	Άγνωστο
Ζελατινάσες		
Ζελατινάση A	MMP-2	Ζελατίνη, κολλαγόνο I, IV, V, VII, X, λαμινίνη, φιμπρονεκτίνη, αγρεκάνη, τενασκίνη-C, βιτρονεκτίνη
Ζελατινάση B	MMP-9	Ζελατίνη, κολλαγόνο IV, V, XIV, αγρεκάνη, ελαστίνη, εντακτίνη, βιτρονεκτίνη
Στρωμολυσίνες		
Στρωμολυσίνη 1	MMP-3	Ζελατίνη, φιμπρονεκτίνη, λαμινίνη, τενασκίνη-C βιτρονεκτίνη, κολλαγόνο III, IV, IX, X
Στρωμολυσίνη 2	MMP-10	Κολλαγόνο IV, φιμπρονεκτίνη, αγρεκάνη
Ματριλυσίνες		
Ματριλυσίνη 1	MMP-7	Ζελατίνη, φιμπρονεκτίνη, λαμινίνη, Κολλαγόνο IV, βιτρονεκτίνη, τενασκίνη-C, ελαστίνη, αγρεκάνη
Ματριλυσίνη 2	MMP-26	Ζελατίνη, φιμπρονεκτίνη
Στρωμολυσίνη 3	MMP-11	Φιμπρονεκτίνη, ζελατίνη, λαμινίνη, κολλαγόνο IV, αγρεκάνη
Τύπου μεμβράνης MMPs		
MT1-MMP	MMP-14	Κολλαγόνο I, II, III, φιμπρονεκτίνη, λαμινίνη, βιτρονεκτίνη, πρωτεογλυκάνες, ενεργοποιημένη proMMP-2 και MMP-13
MT2-MMP	MMP-15	ενεργοποιημένη proMMP-2
MT3-MMP	MMP-16	ενεργοποιημένη proMMP-2
MT4-MMP	MMP-17	Άγνωστο
MT5-MMP	MMP-24	ενεργοποιημένη proMMP-2
MT6-MMP	MMP-25	
Διάφορες άλλες		
Μεταλλοελαστάση	MMP-12	Ελαστίνη, φιμπρονεκτίνη
Ανώδυμη	MMP-19	Αγρεκάνη
Εναμελισίνη	MMP-20	Αγρεκάνη, αμελογενίνη
Ανώδυμη	MMP-21	Άγνωστο
CA-MMP	MMP-23	Άγνωστο
Ανώδυμη	MMP-27	Άγνωστο
Επιλυσίνη	MMP-28	Άγνωστο

Πίνακας 5. Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες και τα υποστρώματά τους.

iv. Η Δομή των MMPs

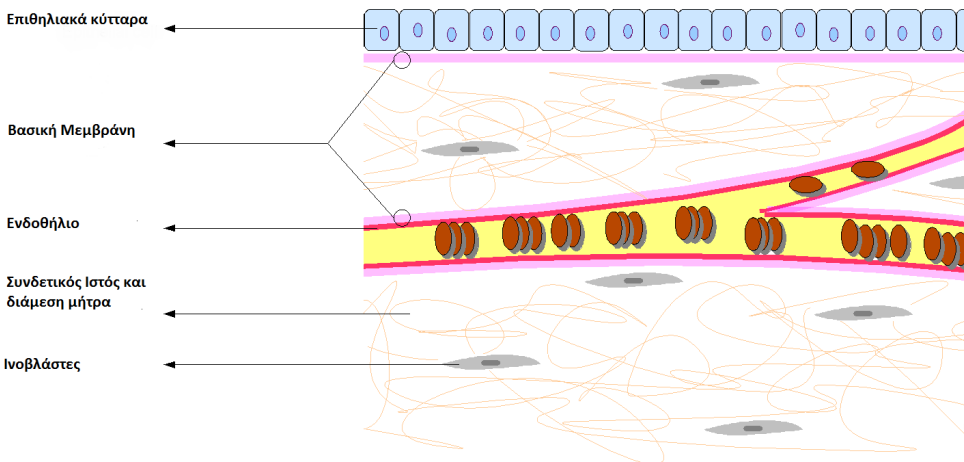
Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες έχουν μεταξύ τους κοινά δομικά χαρακτηριστικά (Σχήμα 4). Στην αλληλουχία όλων των μεταλλοπρωτεϊνών περιλαμβάνεται ένα σηματοδοτικό πεπτίδιο το οποίο είναι απαραίτητο για την έκκριση αυτών των ενζύμων. Παράλληλα, περιλαμβάνεται μια προπεπτιδική περιοχή η οποία πρέπει να αποκοπεί για να γίνουν τα ένζυμα ενεργά, καθώς οι μεταλλοπρωτεϊνάσες αρχικά συντίθενται σαν ανενεργά ζυμογόνα. Η καταλυτική περιοχή των μεταλλοπρωτεϊνών είναι υπεύθυνη για την πρωτεολυτική ενεργότητα του ενζύμου. Η κρυσταλλογραφική ανάλυση, με ακτίνες Χ, της δομής της καταλυτικής περιοχής διαφόρων μεταλλοπρωτεϊνών έδειξε ότι αυτή έχει σφαιρική διαμόρφωση και ότι το ενεργό κέντρο είναι μια εσοχή κατά μήκος της καταλυτικής περιοχής όπου ένα καταλυτικά σημαντικό ιόν Zn^{+2} βρίσκεται δεσμευμένο, σε μία διατηρημένη περιοχή.⁹² Οι ζελατινάσες (όπως η MMP-2 και η MMP-9) διακρίνονται, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, από την παρουσία μιας πρόσθετης περιοχής μέσα στην καταλυτική περιοχή, που είναι η περιοχή πρόσδεσης της ζελατίνης. Η καταλυτική περιοχή συνδέεται με τη C-τελική περιοχή με μια εύκαμπτη συνδετική αλληλουχία, που καλείται περιοχή-αρμός. Η C-τελική περιοχή έχει δομικές ομοιότητες με τη πρωτεΐνη αιμοπηξίνη και θεωρείται ότι προσδιορίζει την ειδικότητα για το υπόστρωμα και είναι η θέση με την οποία το μόριο αλληλεπιδρά με τους αναστολείς TIMPs. Οι μεμβρανικού τύπου μεταλλοπρωτεϊνάσες είναι προσδεδωμένες στην πλασματική μεμβράνη μέσω αυτής της περιοχής, ενώ μερικές από αυτές έχουν και κυτταροπλασματικές περιοχές.^{93,94}



Σχήμα 4. **A.** Η στερεοχημική δομή μεταλλοπρωτεϊνών. Η προπεπτιδική πράσινη κορδέλα, η καταλυτική χρώματος, η περιοχή αρμός σαν λευκή επιφάνεια, και η περιοχή με ομοιότητα αιμοπηξίνης σαν κίτρινη κορδέλα. Το Zn^{2+} παρουσιάζεται σαν πορτοκαλί σφαίρα. Τα ιόντα ασβεστίου στην καταλυτική περιοχή και στην περιοχή με δομή αιμοπηξίνης εμφανίζονται σαν γαλάζιες σφαίρες. (Τροποποιημένο και μεταφρασμένο από Massova I, et al⁹⁵) **B.** Σχηματική απεικόνιση της δομής των μεταλλοπρωτεϊνών. Αποτελούνται από ένα αρχικό Signal-πεπτίδιο, από ένα προπεπτιδίο απαραίτητο για τη διατήρηση της δομής του προένζυμου, την καταλυτική περιοχή του ένζυμου η οποία περιέχει ιόντα Zn και Ca, μια συνδετική πλούσια σε προλίνη περιοχή, την Hemopexin-like περιοχή η οποία καθορίζει την ειδικότητα του υποστρώματος. Οι MT- MMPs περιέχουν επιπλέον μια διαμεμβρανική περιοχή.

ν. Παραγωγή των MMPs

Ο εξωκυττάριος χώρος (extracellular matrix) αποτελείται από τρεις ομάδες μεγαλομοριακών ενώσεων: α) τις δομικές πρωτεΐνες (κολλαγόνο και ελαστίνη), β) τις κολλώδεις γλυκοπρωτεΐνες και γ) μία στοιβάδα από πρωτεογλυκάνες και υαλουρονικό οξύ. Οι παραπάνω μεγαλομοριακές ενώσεις συγκεντρώνονται σε δύο σχηματισμούς, είτε στη διάμεση μήτρα (interstitial matrix), είτε στη βασική μεμβράνη (basement membrane). (Σχήμα 5) Η διάμεση μήτρα βρίσκεται στο χώρο μεταξύ επιθηλιακών, ενδοθηλιακών και λείων μυϊκών κυττάρων (smooth muscle cells) και συνδετικών ιστών. Αποτελείται από κολλαγόνο τύπου I, III και V, ελαστίνη, φμπρονεκτίνη, πρωτεογλυκάνες, υαλουρονικό οξύ και άλλα συστατικά. Η βασική μεμβράνη παράγεται από επιθηλιακά και μεσεγχυματικά κύτταρα και αποτελεί έναν σχηματισμό από κολλαγόνο τύπου IV, λαμινίνη, θειική ηπαράνη (βλεννοπολυσακχαρίτης), πρωτεογλυκάνες και άλλες γλυκοπρωτεΐνες.⁹⁶



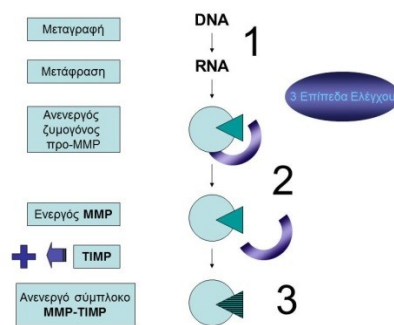
Σχήμα 5. Η σχηματική απεικόνιση του εξωκυττάριου χώρου σε σχέση με το επιθήλιο, το ενδοθήλιο και τον συνδετικό ιστό. (Τροποποιημένο και μεταφρασμένο από www.medscape.com)

Οι MMPs λοιπόν παράγονται κυρίως στο εξωκυττάριο στρώμα πολλών ζωντανών οργανισμών πέραν του ανθρωπίνου οργανισμού.

Αρχικά παράγονται ως ανένεργα πρόδρομα μόρια, τα ζυμογόνα. Οι ανενεργείς MMPs (pro-MMPs) μπορούν να παραχθούν από ενδοθηλιακά κύτταρα, λεία μυϊκά κύτταρα και φιβροβλάστες, κάτω από φυσιολογικές ή παθολογικές καταστάσεις. Διατηρούνται στη μορφή αυτή μέσω μιας γέφυρας κυστεΐνης. Ουσίες που μπορούν να αλληλεπιδράσουν με την κυστεΐνη, ενεργοποιούν τις MMPs. Εφόσον λοιπόν παραχθούν οι MMPs σε ανενεργή μορφή, πρέπει να ενεργοποιηθούν για να ασκήσουν την ενζυμική τους δράση.

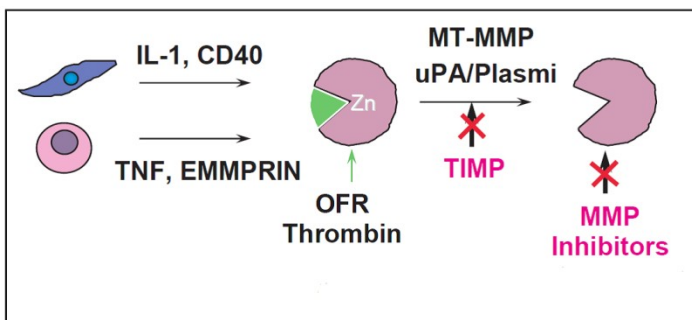
vi. Ενεργοποίηση και Ρύθμιση δραστηριότητας των MMPs

Εφόσον οι MMPs ενεργοποιηθούν, είναι ικανές να αποικοδομήσουν όλη την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία. Επομένως η ρύθμιση της ενεργοποίησής τους πρέπει να βρίσκεται σε αυστηρό έλεγχο ώστε να προστατεύεται η ομαλή λειτουργία του οργανισμού.^{97,98} Πράγματι, η ενεργότητα των MMPs ελέγχεται σε τρία επίπεδα. (Σχήμα 6):



Σχήμα 6. Ο έλεγχος της δραστηριότητας των μεταλλοπρωτεϊνάσων ασκείται σε τρία επίπεδα. (Τροποποιημένο από Libby P, Lee RT⁸⁶)

1) **Στο μεταγραφικό επίπεδο**, μέσω ρύθμισης της μεταγραφής των γονιδίων τους, μια διαδικασία η οποία επιτυγχάνεται, είτε μέσω μεταγραφικών παραγόντων (όπως του μεταγραφικού παράγοντα AP-1 και του πυρηνικού μεταγραφικού παράγοντα NF-κB), είτε μέσω μεταλλάξεων. Η παραγωγή των περισσότερων MMPs ενεργοποιείται μέσω του μεταγραφικού παράγοντα AP-1. Το εκάστοτε εξωκυττάριο ερέθισμα οδηγεί στο σχηματισμό του AP-1 μεταγραφικού παράγοντα. Αυτός συνδέεται στην AP-1 θέση του υποκινητή κι έτσι ενεργοποιεί τη διαδικασία μεταγραφής των MMPs γονιδίων. Ο σχηματισμός των συστατικών του κλασικού AP-1 διμερούς μεσολαβείται από τρεις ενεργοποιούμενες από μιτογόνα πρωτεϊνοκινάσες (MAP-κινάσες, MAPKs). Οι MAPKs με τη σειρά τους ενεργοποιούνται από κυτοκίνες και αυξητικούς παράγοντες και το οξειδωτικό στρες. Τα αρχικά επίπεδα των προεμζύμων (proMMPs) ρυθμίζονται μέσω του μεταγραφικού μηχανισμού με πιθανό ρυθμιστή της προφλεγμονώδεις κυτοκίνες. Τα πεπτίδια σήματος (peptide signals) των κυτοκινών (TNF-α, ILs και ειδικοί MMP inducers) είναι εξαιρετικά αποτελεσματικά στη ρύθμιση της παραγωγής των προεμζύμων από τα λεία μυϊκά κύτταρα ή τους ινοβλάστες, και την μεταφορά τους στον εξωκυττάριο χώρο.⁹⁹



Σχήμα 7. Ο μηχανισμός ενεργοποίησης και παραγωγής προεμζύμων στο μεταγραφικό επίπεδο μέσω των κυτοκινών. EMMPRIN =Εισαγωγέας των MMP στον εξωκυττάριο χώρο; IL= Ιντερλευκίνες; MT- MMP= Τύπου μεμβράνης MMP; OFR =Ελεύθερες ρίζες O²; TNF=Παράγοντας Νεκρωσης Όγκων; uPA/Plasmi= Τύπου Ουροκινάσης ενεργοποιητής πλασμιγόνου; Zn=Ψευδάργυρος (Τροποποιημένο και μεταφρασμένο από P. Liu⁹⁹)

2) **Μέσω ενεργοποίησης των pro-MMPs.** Για να επιτευχθεί η ενεργοποίηση των pro-MMPs πρέπει από την ανενεργή μορφή να απομακρυνθεί από την προ-πολυπεπτιδική αλυσίδα (N-terminal pro-peptide domain) η πεπτιδική αλυσίδα που ονομάζεται πεπτίδιο-σήματος (signal domain) και περιέχει την κυστεΐνη, διότι μπλοκάρει το ενεργό κέντρο του ενζύμου αφού συνδέεται με το ιόν ψευδαργύρου (Cys-Zn²⁺). Για την *in vivo* ενεργοποίηση των pro-MMPs έχουν περιγραφεί τρεις διαφορετικοί μηχανισμοί:

α) η προοδευτική ενεργοποίηση (stepwise activation), με τη συμμετοχή πρωτεϊνών όπως η πλασμίνη, η τρυψίνη, η χυμάση, η ελαστάση, ή η καλλικρεΐνη. Από αυτές τις πρωτεΐνες, η πλασμίνη κατέχει τον πιο σημαντικό ρόλο στην *in vivo* ενεργοποίηση. Η παραγωγή της προκαλείται από το πλασμινογόνο και την επίδραση σε αυτό των ενεργοποιητών πλασμινογόνου και ουροκινάσης.¹⁰⁰ (Σχήμα 8)

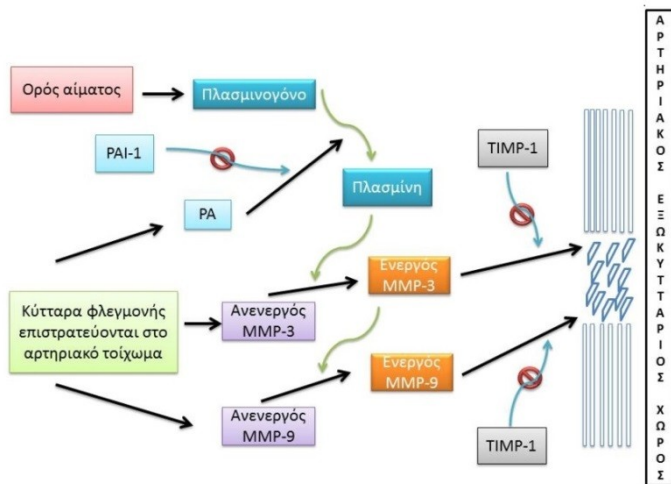
β) η ενεργοποίηση στην κυτταρική επιφάνεια από τύπου μεμβράνης MMPs (activation at the cell surface by MT-MMPs), που είναι σημαντική για την περικυτταρική αποδόμηση των συστατικών του εξωκυττάριου στρώματος κατά τη διάρκεια της μετανάστευσης των κυττάρων.

γ) η ενδοκυττάρια ενεργοποίηση (intracellular activation). Η πρώτη φορά που έγινε λόγος για ενδοκυττάρια ενεργοποίηση ήταν το 1995, όταν ανακαλύφθηκε ότι η στρωμολυσίνη 3 (MMP-11) μπορεί να ενεργοποιηθεί από μία ενδοκυττάρια πρωτεΐνη, όμως ο μηχανισμός ενεργοποίησης δεν έχει πλήρως αποσαφηνιστεί.

3) **Μέσω των ενδογενών αναστολέων των MMPs.** Η δραστηριότητα των μεταλλοπρωτεϊνών αναστέλλεται από δύο κυρίως τύπους αναστολέων, την α₂-μακροσφαιρίνη (α₂-macroglobulin) και τους ιστικούς αναστολείς των μεταλλοπρωτεϊνών (TIMPs). Η α₂-μακροσφαιρίνη είναι μία γλυκοπρωτεΐνη που εκκρίνεται από το ήπαρ και τη συναντάμε στο πλάσμα και έχει συνολικό μοριακό

βάρος 725 kDa, ενώ αποτελείται από 4 μέρη με παρόμοιο μοριακό βάρος (180 kDa). Αναστέλλει τη δράση των περισσοτέρων πρωτεϊνών, παγιδεύοντας αυτές στην οργανική της δομή δημιουργώντας σύμπλοκη ένωση, η οποία αποδομείται με τη βοήθεια υποδοχέα (low density lipoprotein receptor- related protein-1)-μεσολαβητή φαγοκυττάρωσης.

Εκτός από τους ιστικούς αναστολείς και την α_2 -μακροσφαιρίνη, η δράση των μεταλλοπρωτεϊνών αναστέλλεται και από άλλους παράγοντες περισσότερο δευτερευούσης σημασίας. Κατά αυτόν τον τρόπο, έχουν περιγραφεί διάφορες πρωτεΐνες που αναστέλλουν μερικές μεταλλοπρωτεϊνάσες, όπως η β -αμυλοειδική πρόδρομη πρωτεΐνη (β -amyloid precursor protein) και η επαυξάνουσα την προκολλαγόνο C-πρωτεϊνάση πρωτεΐνη (procollagen C-proteinase enhancer protein) που αναστέλλουν τη δραστηριότητα της MMP-2 και μία γλυκοπρωτεΐνη (GPI-anchored glycoprotein) που αναστέλλει τη δραστηριότητα των MMP-2, -9 και -14.



Σχήμα 8. Σχηματική παράσταση της αλληπίδρασης του πλασμινογόνου και του ενεργοποιητή του στην αποδόμηση του εξωκυττάρου αγγειακού χώρου. [PA= Ενεργοποιητής πλασμινογόνου, PAI-1= Αναστολέας ενεργοποιητής πλασμινογόνου] (Τροποποιημένο και μεταφρασμένο από E. Allaire¹⁰⁰)

8. ΕΝΔΟΓΕΝΕΙΣ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΩΝ ΜΕΤΑΛΛΟΠΡΩΤΕΪΝΑΣΩΝ (TIMPs)

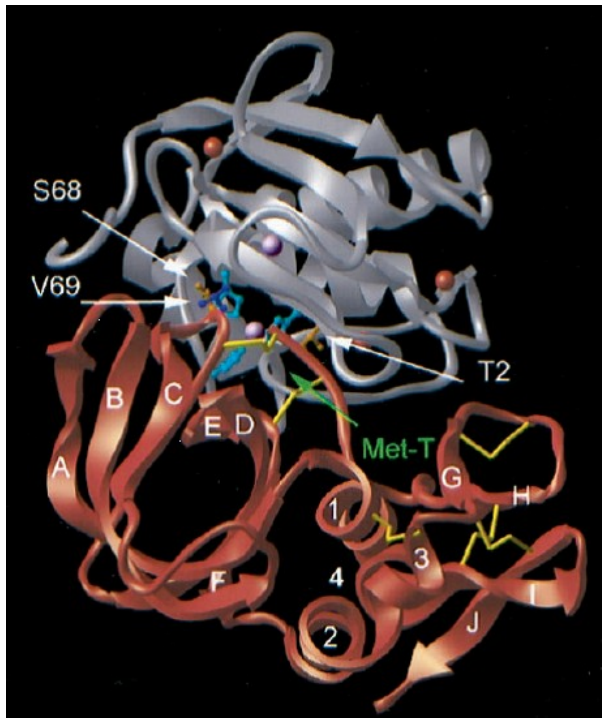
Οι ιστικοί αναστολείς των μεταλλοπρωτεϊνών αποτελούν πρωτεΐνες που αναστέλλουν εκλεκτικά τις MMPs, σχηματίζοντας 1:1, μη αναστρέψιμα, υψηλής συγγένειας σύμπλοκα μαζί τους, (συνδέονται στην καταλυτική περιοχή των MMPs που περιέχει τον Zn^{+2}), ώστε αυτές καθίστανται αδρανείς. (Σχήμα 9) Με τον τρόπο αυτό ελέγχεται η έκφραση των ενεργών μορφών των MMPs στην εξωκυττάρια θεμέλια ουσία.

Έως σήμερα έχουν ανακαλυφθεί 4 τύποι αναστολέων (TIMP-1, -2, -3, -4). Σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις οι οποίες συνοδεύονται από αύξηση και ενεργοποίηση των MMPs, παρατηρείται μεταβολή των επιπέδων των TIMPs με άμεση επίδραση στα αντίστοιχα επίπεδα των MMPs.

Οι ιστικοί αναστολείς έχουν μοριακό βάρος 21 έως 29 kDa και αποτελούνται από δύο πεπτιδικές αλυσίδες με 125 και 65 αμινοξέα (N- and C-terminal domain). Το πρώτο τμήμα των ιστικών αναστολέων (N-terminal domain) είναι αυτό που τους προσδίδει την ικανότητα αναστολής της δράσης των μεταλλοπρωτεϊνών. Επομένως δημιουργείται ένα σύμπλοκο (Σχήμα 9), από τον ιστικό αναστολέα και την μεταλλοπρωτεΐνωση, με αποτέλεσμα την αναστολή της δραστηριότητας της. Γενικά, ο ιστικός αναστολέας-1 (TIMP-1), μπορεί να αναστείλει τη δραστηριότητα όλων των μεταλλοπρωτεϊνών εκτός της MMP-2 και της MT1-MMP (MMP-14), ο ιστικός αναστολέας-2 (TIMP-2) όλων των μεταλλοπρωτεϊνών, εκτός της MMP-9, ο ιστικός αναστολέας-3 (TIMP-3) έχει βρεθεί ότι αναστέλλει τη δράση των MMP-1, -2, -3, -9, -13, ενώ τέλος ο ιστικός αναστολέας-4 (TIMP-4) αναστέλλει τις MMP-1, -3, -7, -9, ενώ έχει διαπιστωθεί ότι βρίσκεται σε αυξημένα επίπεδα στο ανθρώπινο μυοκάρδιο. Η ρύθμιση της

λειτουργικότητας των ιστικών αναστολέων καθορίζεται από παράγοντες όπως εστέρες φορβόλης και ιντερλευκίνες (IL-1, IL-6).

Τέλος, οι TIMPs, εκτός της κλασσικής τους δράσης, έχει βρεθεί ότι συμμετέχουν και σε άλλες βιολογικές διαδικασίες όπως ότι προάγουν τη δραστηριότητα διαφόρων αυξητικών παραγόντων και αναστέλλουν την αγγειογένεση.

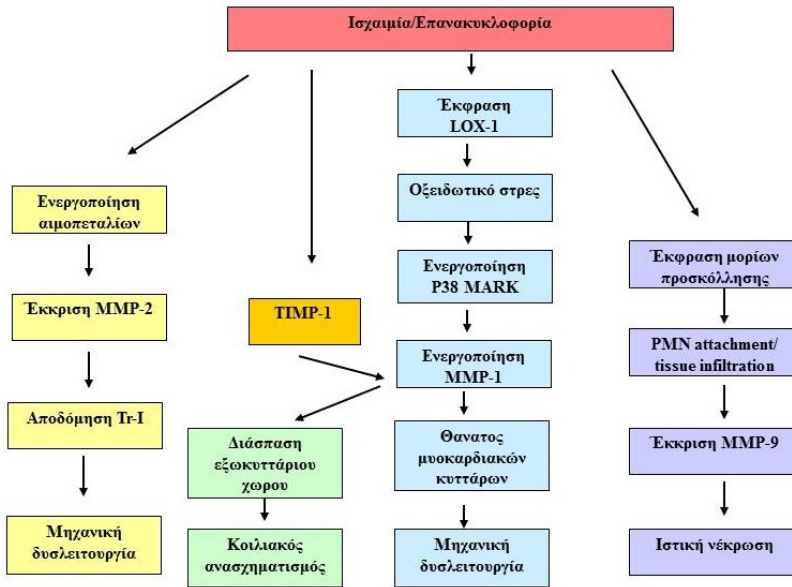


Σχήμα 9. Σύμπλεγμα TIMP-1 με την καταλυτική περιοχή MMP-3. (Τροποποιημένο από H Nagase⁸⁸)

9. MMPs και E/K

Η E/K αποτελεί αδιάσπαστο τμήμα των περισσότερων καρδιοχειρουργικών επεμβάσεων. Παρά τούτα ενοχοποιείται για την εκδήλωση του συνδρόμου SIRS. Η εμφάνιση του συνδρόμου αυτού σε ασθενείς που υφίστανται καρδιοχειρουργική επέμβαση και εκτίθενται σε E/K μπορεί να ευθύνεται για την εμφάνιση διεγχειρητικών η/και μετεγχειρητικών επιπλοκών. Η διατμητική τάση (shear stress), η μη σφυγμική ροή (apulsatile flow) και άλλοι φυσικοί παράγοντες σχετιζόμενοι με την E/K, οδηγούν στην εξ επαφής ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, των ουδετερόφιλων, των λεμφοκυττάρων, των μονοκυττάρων και των ενδοθηλιακών κυτταρών.¹⁰¹ Αποτέλεσμα αυτού είναι η απελευθέρωση ελευθέρων ριζών, προτεασών, προ-φλεγμονωδών κυτοκινών και άλλων διαμεσολαβητών της φλεγμονής από τον οργανισμό. Οι παραπάνω παράγοντες έκλυσης του συνδρόμου SIRS μετά E/K φαίνεται ότι ενεργοποιούν και τις MMPs.¹⁰¹⁻¹⁰³ Η ενεργοποίηση των MMPs έχει κατά κόρον συνδεθεί με την συμμετοχή τους στη διαδικασία της κοιλιακής αναδιαμόρφωσης και τη ρήξη της αθηρωματικής πλάκας καθώς και σε ένα ευρύ φάσμα μη καρδιακών παθήσεων. Αποτελέσματα όμως προσφάτων ερευνών αναδύουν στοιχεία ότι τα ένζυμα αυτά παίζουν ρόλο και σε άλλες οξείες καταστάσεις. Έτσι σε οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου μεγάλη σημασία παίζει η έκφραση των MMP-1, MMP-2 και MMP-9. Οι MMPs αυτές φαίνεται ότι ενεργοποιούνται από διαφορετικούς μηχανισμούς

και είναι υπεύθυνες από διαφορετική άποψη η κάθε μια για την παθολογική εξεργασία της ιστικής νέκρωσης και επούλωσης.¹⁰⁴ (Σχήμα 10)



Σχήμα 10. Σχηματική παράσταση των οδών με τις οποίες οι MMP μεσολαβούν στην απάντηση του οργανισμού στο ερέθισμα Ισχαιμία του μυοκαρδίου/Επανακυκλοφορία. LOX= χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνικοί υποδοχείς. (Τροποποιημένο και μεταφρασμένο από CL Wainwright¹⁰⁴).

Η MMP-1, η οποία ενεργοποιείται αμέσως ή εμμέσως δια του p38MAPK, προκαλεί το μυοκαρδιακό θάνατο ο οποίος παρατηρείται μέσα στα πρώτα λεπτά μετά την επαναιμάτωση. Η MMP-2, η οποία εμφανίζεται ενδοκυτταρίως ή απελευθερώνεται από τα αιμοπετάλια, ενεργοποιείται από την ισχαιμία και παίζει σημαντικό ρόλο μετά από μυοκαρδιακή επαναιμάτωση. Παρουσιάζεται να ενορχηστρώνει την αποδόμηση του συσταλτικού μηχανισμού, με αποτέλεσμα αφενός μεν τη δημιουργία του κυτταρικού τραύματος, αφετέρου την επίδρασή της στη μυοκαρδιακή συσταλτικότητα. Επίσης η MMP-9 είναι στενά συδεδεμένη με τα ουδετερόφιλα, τα οποία ως γνωστόν διηθούν τους ιστούς μέσα σε λίγες ώρες απο την επαναιμάτωση και συμβάλλουν με τη σειρά τους στην ευρύτερη έκταση του κυτταρικού θανάτου.

Η σχέση αριθμού λευκοκυττάρων και της ενεργοποίησής τους με την παραγωγή και ενεργοποίηση των MMPs σε ασθενείς που υποβάλλονται σε καρδιοχειρουργική επέμβαση υπό Ε/Κ, έχει τεκμηριωθεί από προηγούμενες μελέτες. Οι Garner et al¹⁰¹ μελέτησαν τον αριθμό των λευκοκυττάρων και τα επίπεδα MMP-2 και MMP-9 σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε CCABG με και χωρίς την χρήση φίλτρων λευκαφαίρεσης στο κύκλωμα της Ε/Κ, σε διάφορες χρονικές στιγμές, μέχρι και 12 ώρες από την διακοπή της Ε/Κ. Στη μελέτη τους καταλήγουν ότι η χρήση φίλτρων λευκαφαίρεσης ελαττώνει κατά 30% την proMMP-9, ενώ η proMMP-2 παρουσιάζεται αυξημένη και με τη χρήση των απλών αρτηριακών φίλτρων και με τη χρήση των φίλτρων λευκαφαίρεσης. Τα λευκοκύτταρα και ειδικότερα τα ουδετερόφιλα εμφανίστηκαν αυξημένα και στις δυο ομάδες, αποτέλεσμα συμβατό με τη φλεγμονώδη αντίδραση, αποτέλεσμα της Ε/Κ. Η αύξηση της proMMP-2 και στις δυο ομάδες δικαιολογήθηκε από το γεγονός ότι στην παραγωγή και απελευθέρωσή της δεν παίζουν ρόλο τα ουδετερόφιλα. Αντίθετα η μείωση της proMMP-9 στην ομάδα που χρησιμοποιήθηκαν φίλτρα λευκαφαίρεσης αποδόθηκε στο γεγονός ότι η παραγωγή της proMMP-9 σχετίζεται με την ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων. Στα ίδια συμπεράσματα σχετικά με την MMP-9 καταλήγουν και οι Schneider et al.¹⁰⁵

Από άλλους ερευνητές τεκμηριώνεται ότι η χρήση των φίλτρων λευκαφαίρεσης μειώνει τις αρνητικές επιδράσεις της Ε/Κ, που αφορούν στο τραύμα Ισχαιμίας/Επαναιμάτωσης.¹⁰⁶⁻¹⁰⁸

Αν και οι Steinberg et al¹⁰³ δεν μπόρεσαν να συσχετίσουν αυξημένη παραγωγή MMP-9 με διαταραχή της πνευμονικής λειτουργίας, άλλοι ερευνητές τεκμηρίωσαν την ελάττωση της αναπνευστικής δυσλειτουργίας με την χρήση αναστολέων των MMPs.^{109,110}

Οι Galt et al σε έρευνά τους βρήκαν συσχέτιση μεταξύ των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων και λευκοκυττάρων με την παραγωγή MMP-9.¹¹¹ Οι προφλεγμονώδεις κυτοκίνες, που ενεργοποιούνται κατά την Ε/Κ^{112,113}, έχουν σαν αποτέλεσμα την ενεργοποίηση άλλων μεσολαβητών φλεγμονής, όπως των MMPs.

Οι Mayers et al¹¹⁴ μελέτησαν τα επίπεδα των MMP-2, MMP-9 και TIMP-4 με ζυμογραφία, σε διάφορα στάδια επεμβάσεων CCABG. Από τη μελέτη τους συνάγεται ότι υπάρχει μια ισχυρή συσχέτιση MMP-9 και TIMP-4, η οποία εκφράζεται με άνοδο της MMP-9 και κάθοδο της TIMP-4. Η συσχέτιση αυτή αποδόθηκε στην ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων. Η αύξηση των επιπέδων MMP-2 κατά την Ε/Κ αποδόθηκε στην ενεργοποίηση και το τραύμα των αιμοπεταλίων κατά την Ε/Κ.¹¹⁵ Οι μεταβολές των επιπέδων των MMPs που προκαλούνται μετά από Ε/Κ, έχουν περιγραφεί σε διάφορες εργασίες.^{102,112,114,116-118}

Οι Joffs C, et al¹⁰² μελέτησαν την ενεργοποίηση και απελευθέρωση των MMP-2, MMP-8, MMP-9 και MMP-13 κατά τη διάρκεια διαφόρων χρονικών στιγμών σε επεμβάσεις CCABG. Από τη μελέτη αυτή προέκυψε ότι τα επίπεδα της MMP-8 ανεβαίνουν 4 φορές περισσότερο κατά τη διακοπή της Ε/Κ και επιστρέφουν στο φυσιολογικά τους επίπεδα 30 λεπτά μετά την διακοπή της Ε/Κ. Τα επίπεδα των proMMP-9 και proMMP-13 αυξάνονται πάνω από δυο φορές κατά την άρση του αορτικού αποκλεισμού και επιστρέφουν στα φυσιολογικά τους επίπεδα 12 ώρες μετά την Ε/Κ. Τα επίπεδα της proMMP-2 ανεβαίνουν, σε σχέση με την αρχική τιμή της, 6-24 ώρες μετεγχειρητικά.

Παρότι η MMP-2 και MMP-9 είναι γνωστές για τις πρωτεολυτικές δράσεις τους σε χρόνιες καταστάσεις, όπως η καρδιακή ανεπάρκεια και η αθηροσκλήρωση,¹¹⁹⁻¹²² προσφάτως φαίνεται ότι η MMP-2 εμπλέκεται σε οξείες πρωτεολυτικές διεργασίες που δεν αφορούν τον εξωκυττάριο χώρο. Αυτές περιλαμβάνουν την

χημειοταξία των αιμοπεταλίων (aggregation), την ρύθμιση (regulation) του αγγειακού τόνου και τη διαμόρφωση (modulation) της φλεγμονώδους αντίδρασης.¹²³⁻¹²⁶ Το λαθροβιούν μυοκάρδιο, μετά από επαναιμάτωση, αποτελεί άλλη μια οξεία διαδικασία στην οποία εμπλέκονται οι MMPs. Οι Cheng et al¹²⁷ έχουν δείξει ότι η MMP-2 ενεργοποιείται ενδοκυτταρίως μετά την επαναιμάτωση σε ισχαιμία απομονωμένης καρδιάς ποντικών. Η ενεργοποίηση αυτή έχει ως αποτέλεσμα τη διάσπαση του ρυθμιστικού στοιχείου της συσπαστικής πρωτεΐνης Τροπονίνης I.¹²⁸

Οι Lulu MM, et al¹¹⁸ περιέγραψαν την ενεργοποίηση και απελευθέρωση των MMP-2, MMP-9 καθώς και των TIMP-1, TIMP-2, και TIMP-4 μετά από CCABG, συσχετίζοντάς τες με την εμφάνιση του απόπληκτου μυοκαρδίου (stunning myocardium) μετά από το τραύμα της Επαναιμάτωσης. Μέσα στους μηχανισμούς της αναστρέψιμης αυτής καρδιακής δυσλειτουργίας αναφέρονται αλλαγές στον καρδιακό μεταβολισμό, παραγωγή ενεργών ριζών οξυγόνου καθώς και η ενεργοποίηση μυοκαρδιακών πρωτεϊνών.¹²⁹⁻¹³² Έτσι λοιπόν οι ερευνητές αυτοί μετρώντας τις MMP-2, MMP-9 καθώς και τους TIMP-1, TIMP-2, και TIMP-4, μετά 1, 5, και 10 λεπτά μετά την άρση του αορτικού αποκλεισμού, βρήκαν ότι οι MMP-2 και MMP-9 αυξάνονται ενώ ο TIMP-1 ελαττώνεται κατά την επανεξέταση. Η αυξημένη δραστηριότητα των MMPs σχετίζεται θετικά με τη διάρκεια του αορτικού αποκλεισμού και είναι αντιστρόφως ανάλογη της καρδιακής λειτουργίας 3 ώρες μετά. Η τιμή του TIMP-1 είναι αντιστρόφως ανάλογη με τη διάρκεια του αορτικού αποκλεισμού και ανάλογη της καρδιακής λειτουργικότητας.

Οι Guenzinger et al¹¹⁷ σε πειραματικό μοντέλο με επίμυες μελέτησαν τα επίπεδα των MMP-2, MMP-9 και των TIMP-1, TIMP-4 στο πλάσμα και στο μυοκαρδιακό ιστό σε τρεις ομάδες πειραματοζώων. Στην πρώτη(CAO) ήταν μόνο Ε/Κ, στην δεύτερη(CAC) Ε/Κ και ασυστολία με ψυχρή κρυσταλλική καρδιοπληγία και

στην τρίτη (CAB) Ε/Κ και ασυστολία με αιματική καρδιοπληγία. Βρήκαν λοιπόν ότι στις ομάδες CAO και CAB η καρδιακή λειτουργία είναι διατηρημένη 60 λεπτά μετά τη διακοπή της Ε/Κ, ενώ δεν ισχύει το ίδιο και για την ομάδα CAC. Όσον αφορά στη συσχέτιση της ενεργοποίησης των MMPs και TIMPs, που εκφράζεται με το λόγο MMP/TIMP, διαπιστώθηκε αύξηση του λόγου MMP-2/TIMP-4 στην ομάδα CAC, ενώ ο λόγος MMP-9/TIMP-1 παραμένει χωρίς αλλαγές και στις τρεις ομάδες. Αυτό διαφέρει από τα αποτελέσματα των Spinale et al¹³³ που βρήκαν σε μελέτη τους την MMP-9 αυξημένη μετά την διακοπή της Ε/Κ, ενώ η MMP-2 παρέμεινε χωρίς αλλαγές. Όμως στη μελέτη αυτή δεν υπήρχε ομάδα έλεγχου και είναι δύσκολο να εξάγει κανείς συμπεράσματα εαν αφετηρία για την ενεργοποίηση των MMP είναι η επαφή του αίματος με το κύκλωμα της Ε/Κ μόνη της ή σε συνδυασμό με την περίοδο γενικευμένης ισχαιμίας.

Προσφάτως, μετά από την αναβίωση και εγκαθίδρυση της OPCAB χειρουργικής, η ομάδα αυτή αποτέλεσε ιδανική ομάδα έλεγχου. Οι Sokal A, et al¹³⁴ το 2009 - τέσσερα χρόνια μετά τον σχεδιασμό της παρούσας μελέτης - περιέγραψαν για πρώτη φορά την ενεργοποίηση και απελευθέρωση των MMP-2 και MMP-9 συγκριτικά, σε στεφανιαίες εγχειρήσεις με και χωρίς Ε/Κ. Έτσι λοιπόν βρήκαν ότι σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε CCABG τα επίπεδα της MMP-9 αυξήθηκαν 700-900 φορές σε σχέση με εκείνους που χειρουργήθηκαν με OPCAB. Η MMP-2 αυξήθηκε και στις δύο ομάδες χωρίς αυτό να έχει στατιστικά σημαντική διαφορά. Επίσης στην Ομάδα CCABG, μαζί με την αύξηση της MMP-9, αυξήθηκαν και οι TIMP-1 και TIMP-2 αλλά όχι σε επίπεδα ανάλογα της αύξησης της MMP-9.

Β. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Στην παρούσα μελέτη, η οποία εκπονήθηκε στην Α' Κλινική Θώρακος, Καρδιάς και Μεγάλων Αγγείων του ΑΠΘ, συμπεριελήφθησαν συνολικά 40 ασθενείς οι οποίοι υποβλήθηκαν σε προγραμματισμένη αορτοστεφανιαία παράκαμψη. Οι ασθενείς αυτοί πληρούσαν κριτήρια εισόδου και αποκλεισμού, τα οποία καθορίστηκαν βάσει των υπάρχοντων βιβλιογραφικών δεδομένων.

Κριτήρια εισόδου στη μελέτη αποτέλεσαν:

- Ηλικία μικρότερη των 75 ετών
- Στεφανιαία νόσος τριών αγγείων
- Καλή λειτουργικότητα της αριστερής κοιλίας
- Αρνητικό ιστορικό προηγηθέντος εμφράγματος
- Προεγχειρητική θεραπεία με αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγιοτενσίνης και αντιλιπιδαιμική αγωγή¹³⁵

Κριτήρια αποκλεισμού από τη μελέτη αποτέλεσαν:

- Προηγηθείσα καρδιοχειρουργική επέμβαση.¹³⁶
- Συνυπάρχουσα άλλη καρδιακή νόσος που να απαιτεί τη χειρουργική αποκατάστασή της στον ίδιο ή άλλο χρόνο.¹³⁷
- Συνυπάρχουσα νόσος που να απαιτεί προεγχειρητική θεραπεία με κορτικοστεροειδή ή/και μη στεροειδή αναλγητικά (π.χ. ρευματοειδής αρθρίτιδα)
- Σακχαρώδης διαβήτης υπό αγωγή με ινσουλίνη.^{138,139}
- Αποφρακτική πνευμονοπάθεια.^{140,141}
- Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια.
- Κακοήθης νόσος
- Ανεύρυσμα θωρακικής ή/και κοιλιακής αορτής.

Οι ασθενείς κατά την εισαγωγή τους τυχαιοποιήθηκαν σε δύο ομάδες.

Την Ομάδα Α, στην οποία οι ασθενείς χειρουργήθηκαν με τη χρήση της εξωσωματικής κυκλοφορίας (CCABG) και

την Ομάδα Β, στην οποία οι ασθενείς χειρουργήθηκαν χωρίς εξωσωματική κυκλοφορία (OPCAB). Από τους ασθενείς και των δύο ομάδων ελήφθηκε αίμα από τον καθετήρα της κεντρικής φλεβικής γραμμής για τον προσδιορισμό των επιπέδων των MMP-9 και MMP-13 και των TIMP-1 και TIMP-4 στον ορό του αίματος σε διάφορες χρονικές στιγμές των επεμβάσεων της αορτοστεφανιαίας παράκαμψης με ή χωρίς E/K.

Από τους ασθενείς και των δύο ομάδων λαμβάνονταν γραπτή συγκατάθεση για τη συμμετοχή τους στο πρωτόκολλο της μελέτης.

Τα δημογραφικά στοιχεία των δύο ομάδων φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 6).

Πίνακας 6: Δημογραφικά στοιχεία των δύο ομάδων του δείγματος

	CCABG	OPCAB
Ασθενείς	20	20
Φύλο	M=18 / F= 2	M=16 / F= 4
Ηλικία	60,9	65,8

Οι ασθενείς της Ομάδας Α, χειρουργούνταν σύμφωνα με την παρακάτω τεχνική: Μετά την εισαγωγή στην αναισθησία, διανοίγονταν ο θώρακας του ασθενούς με μέση στερνοτομή. Τα μοσχεύματα (αριστερή έσω μαστική αρτηρία και τμήμα της μείζονος σαφηνούς φλέβας) παρασκευάζονταν για τη χρήση τους. Μετά την παρασκευή των μοσχευμάτων και αφού χορηγούνταν η ηπαρίνη ο ασθενής συνδέονταν με την E/K. Το κύκλωμα της E/K δεν περιελάμβανε φίλτρο λευκαφαίρεσης. Αορτική κάνουλα εισέρχονταν στην ανιούσα αορτή. Φλεβική κάνουλα δύο επίπεδων εισέρχονταν στο δεξιό κόλπο. Καθετήρας χορήγησης ορθόδρομης καρδιοπληγίας εισέρχονταν στην ανιούσα αορτή, κεντρικότερα της αορτικής κάνουλας, ο οποίος είχε τη δυνατότητα χρήσης και ως καθετήρας

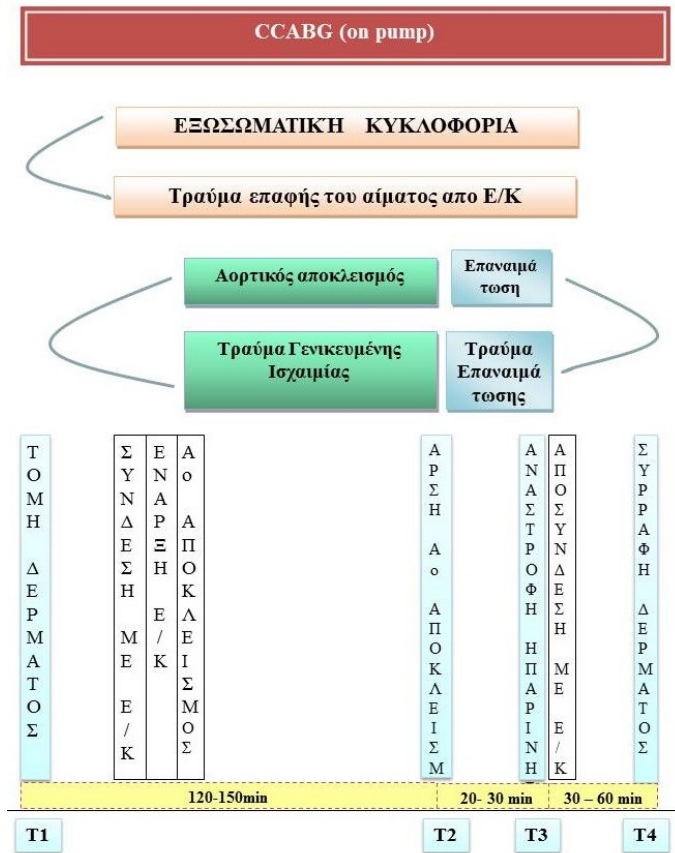
αποσυμφόρησης (vent). Μετά τη σύνδεση του ασθενούς με την Ε/Κ και εφόσον ο ηπαρινισμός του αίματος ήταν επαρκής, άρχιζε η λειτουργία της συσκευής Ε/Κ, και η θερμοκρασία του αίματος χαμήλωνε γύρω στους 33°-34°C. Κατόπιν τοποθετούνταν λαβίδα αορτικού αποκλεισμού μεταξύ αορτικής κάνουλας και καθετήρα αποσυμφόρησης, ενώ ταυτόχρονα χορηγούνταν η καρδιοπληγία με την οποία αφενός επιτυγχάνονταν ασυστολία και αφετέρου προστατεύονταν το μυοκάρδιο. Από το σημείο αυτό άρχιζε η μέτρηση της ισχαιμικής περιόδου της επέμβασης. Πρώτα εκτελούνταν οι περιφερικές αναστομώσεις για τα πάσχοντα στεφανιαία αγγεία με τελευταία αναστόμωση αυτή της αριστερής έσω θωρακικής αρτηρίας στον πρόσθιο κατιόντα κλάδο. Μετά εκτελούνταν οι κεντρικές αναστομώσεις των φλεβικών μοσχευμάτων επί της αορτής. Όταν τελείωνε η εκτέλεση των περιφερικών αναστομώσεων, απελευθερώνονταν η λαβίδα αποκλεισμού της αορτής, εξαερώνονταν τα μοσχεύματα και άρχιζε η περίοδος επαναιμάτωσης (reperfusion).

Όταν αποκαθίσταντο η θερμοκρασία του αίματος και οι αιμοδυναμικές παράμετροι, τότε διακόπτονταν σταδιακά η λειτουργία της συσκευής της Ε/Κ, αναστρέφονταν ο ηπαρινισμός του αίματος με πρωταμίνη και αφαιρούνταν οι κάνουλες. Κατόπιν επιμελούς αιμοστάσεως και τοποθέτησης σωλήνων παροχέτευσης συγκλείονταν το χειρουργικό τραύμα κατά την ανατομική του τάξη.

Στην Ομάδα Α λαμβάνονταν τέσσερα δείγματα στις παρακάτω χρονικές στιγμές (Σχήμα 11):

1. Πριν την τομή του δέρματος (T1): Αρχική τιμή

2. Με την άρση αορτικού αποκλεισμού (T2): Τέλος περιόδου ισχαιμίας και αρχή επαναιμάτωσης
3. Πριν την αναστροφή της ηπαρίνης με πρωταμίνη (T3): Τέλος περιόδου επαναιμάτωσης – αιμοδυναμική αποκατάσταση
4. Μετά τη συρραφή του δέρματος (T4): Τέλος επέμβασης



Σχήμα 11. Σχηματική παράσταση των διαφόρων φάσεων των εγχειρήσεων CCABG, σε σχέση με τις χρονικές στιγμές στις οποίες έγιναν οι αιμοληψίες. Επίσης καθορίζονται τα χρονικά διαστήματα κατά τα οποία οι βλαπτικοί παράγοντες Ε/Κ, ισχαιμία και επαναιμάτωση υφίστανται.

Οι ασθενείς της Ομάδας Β, χειρουργούνται σύμφωνα με την παρακάτω τεχνική:

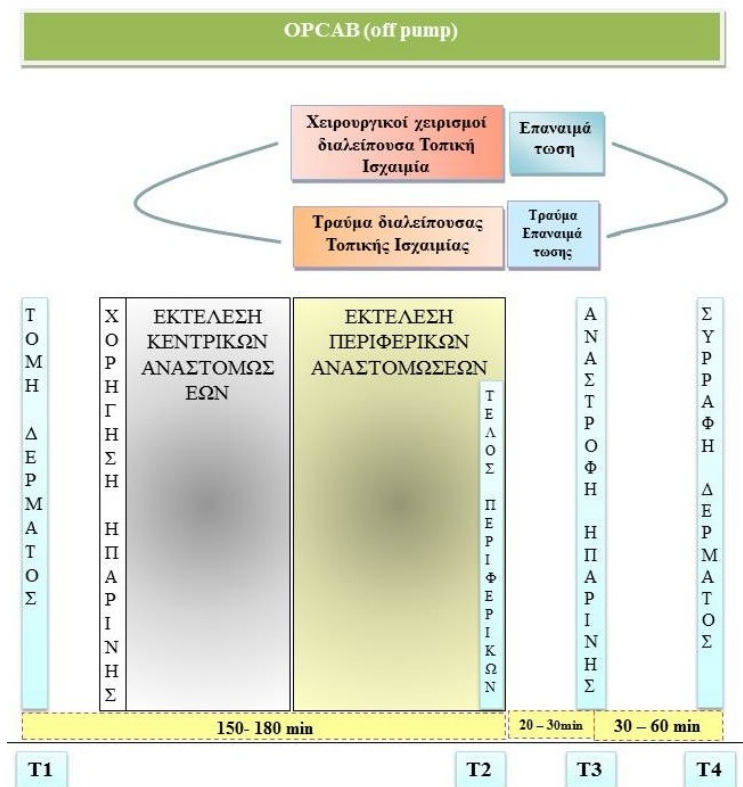
Μετά την εισαγωγή στην αναισθησία, διανοίγονταν ο θώρακας του ασθενούς με μέση στερνοτομή. Τα μοσχεύματα (αριστερή έσω μαστική αρτηρία και τμήμα της

μείζονος σαφηνούς φλέβας) παρασκευάζονταν για τη χρήση τους. Μετά την παρασκευή των μοσχευμάτων γινόταν μερικός ηπαρινισμός του ασθενούς και άρχιζε η εκτέλεση των αναστομώνσεων. Πρώτα εκτελούνταν οι κεντρικές αναστομές των φλεβικών μοσχευμάτων που επρόκειτο να αναστομωθούν. Κατόπιν άρχιζε η εκτέλεση των περιφερικών αναστομώνσεων με την εξής διαδικασία: έκθεση και σταθεροποίηση του νοσούντος αγγείου, αρτηριοτομή και εισαγωγή shunt για τη διατήρηση της κυκλοφορίας του αγγείου και τέλος εκτέλεση της αναστόμωσης με τη βοήθεια φυσητήρα CO₂ και φυσιολογικού ορού.

Στην Ομάδα Β λαμβάνονταν τέσσερα δείγματα στις παρακάτω χρονικές στιγμές (Σχήμα 12):

1. *Πριν την τομή του δέρματος (T1): Αρχική τιμή*
2. *Στο τέλος των περιφερικών αναστομώνσεων/χειρουργικών χειρισμών (T2): Τέλος τοπικής ισχαιμίας*

3. Πριν την αναστροφή της ηπαρίνης με πρωταμίνη (T3): Αιμοδυναμική αποκατάσταση
4. Μετά τη συρραφή του δέρματος (T4): Τέλος επέμβασης



Σχήμα 12. Σχηματική παράσταση των διαφόρων φάσεων των εγχειρήσεων OPCAB, σε σχέση με χρονικές στιγμές στις οποίες έγιναν οι αιμοληψίες. Επίσης καθορίζονται τα χρονικά διαστήματα κατά τα οποία οι βλαπτικοί παράγοντες διαλείπουσα τοπική ισχαιμία και επαναιμάτωση υφίστανται.

Τα δείγματα αίματος μετά τη λήψη τους από τους ασθενείς στις διάφορες χρονικές στιγμές φυγοκεντρώνταν στις 4000 στροφές το δευτερόλεπτο και για 5 λεπτά. Στη συνέχεια καταψύχονταν άμεσα στους -27 βαθμούς Κελσίου (-27°C).

Τελικό σκοπό της μελέτης αυτής αποτελούσαν:

- η εκτίμηση των μεταβολών των τιμών των MMP-9 και MMP-13 στον ορό του αίματος σε εγχειρήσεις CCABG και OPCAB.
- η εκτίμηση των μεταβολών των τιμών των TIMP-1 και TIMP-4 στον ορό του αίματος σε εγχειρήσεις CCABG και OPCAB και η συσχέτιση των μεταβολών αυτών με τις αντίστοιχες τιμές των MMP-9 και MMP-13.

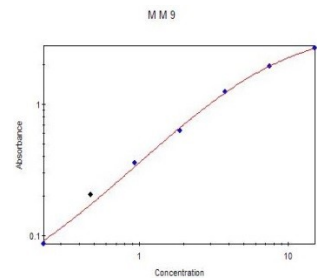
Οι μετρήσεις των μεταλλοπρωτεϊνών MMP-9 και MMP-13 καθώς και των αναστολέων τους TIMP-1 και TIMP-4 πραγματοποιήθηκαν στο Ορολογικό εργαστήριο του ΑΧΕΠΑ, με τη βοήθεια ειδικών αντιδραστηρίων (kits).

Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες μετρήθηκαν με τη μέθοδο ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent assay) της εταιρείας R-D Systems. Το κιτ περιελάμβανε πλάκα 96 βοθρίων καλυμμένων με αντίσωμα έναντι της εκάστοτε μεταλλοπρωτεϊνάσης, πρότυπο ορό γνωστής συγκέντρωσης (standard) για την κατασκευή της καμπύλης μέτρησης, μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι της μεταλλοπρωτεϊνάσης, συνδεδεμένο με ένζυμο HRP, χρωμογόνο υπόστρωμα και διάλυμα τερματισμού της αντίδρασης.

Σε κάθε βοθρίο της πλάκας τοποθετούνταν ο ορός και η μεταλλοπρωτεϊνάση του ορού που μετριόταν συνδέονταν με το αντίσωμα έναντι της μεταλλοπρωτεϊνάσης της πλάκας. Μετά την επώαση και το πλύσιμο, προστίθονταν το μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι της μεταλλοπρωτεϊνάσης, που ήταν συνδεδεμένο με ένζυμο HRP (conjugate). Μετά τη δεύτερη επώαση και το πλύσιμο προστίθονταν χρωμογόνο υπόστρωμα και εμφανίζονταν χρώμα ανάλογο της περιεκτικότητας της μεταλλοπρωτεϊνάσης που θέλαμε να προσδιοριστούν τα επίπεδά της στον ορό. Προστίθονταν διάλυμα τερματισμού της αντίδρασης και η μεταβολή του υποστρώματος μετριόταν χρωματομετρικά. Προσδιορίζονταν η απορρόφηση του κάθε δείγματος που ήταν ανάλογη της συγκέντρωσης της εκάστοτε

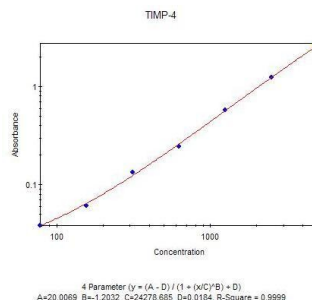
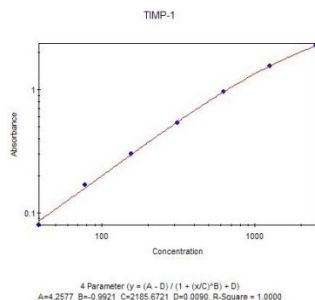
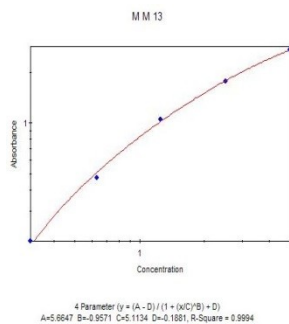
μεταλλοπρωτεΐνάσης, η οποία δίδονται με βάση την πρότυπη καμπύλη βαθμονόμησης. (Σχήμα 13)

Η πρότυπη καμπύλη βαθμονόμησης κατασκευάζεται με τη βοήθεια δύο αξόνων, όπου στον άξονα των x τοποθετούνται οι συγκεντρώσεις των standards σε ng/mL, στον άξονα των y οι αντίστοιχες απορροφήσεις τους και η καμπύλη σχηματίζεται αυτόματα με εφαρμογή μαθηματικής καμπύλης 4 parameter logistics. Έτσι, από την απορρόφηση του κάθε δείγματος προσδιορίζεται από την καμπύλη η συγκέντρωση της μεταλλοπρωτεΐνάσης σε ng/mL. Με ανάλογο τρόπο



4 Parameter $(y = (A - D) / (1 + (x/C)^B) + D)$
 $A=3.7200$ $B=1.2003$ $C=6.9979$ $D=0.0312$, R-Square = 0.9996

μετρήθηκαν και οι TIMP-1 και TIMP-



Σχήμα 13: Πρότυπες καμπύλες βαθμονόμησης για τον υπολογισμό των τιμών MMP-9, MMP-13, TIMP-1, TIMP-4

2. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΉ ΑΝΑΛΥΣΗ

α. Γενικά Στοιχεία

Για τις ανάγκες της παρούσας στατιστικής μελέτης υπολογίστηκαν η μέση τιμή, η τυπική απόκλιση, η μέγιστη και ελάχιστη σημειωθείσα τιμή για τις περιπτώσεις των ποσοτικών μεταβλητών, ενώ για τις κατηγορικές μεταβλητές υπολογίστηκαν οι ποσοστιαίες κατανομές ανά κατηγορία. Αναφορικά με τους ελέγχους υποθέσεων που εφαρμόστηκαν, με σκοπό τον εντοπισμό είτε σημαντικών συσχετίσεων είτε και διαφορών, έγινε χρήση μη παραμετρικών μεθόδων και πιο συγκεκριμένα, του μη παραμετρικού συντελεστή του Spearman, του ελέγχου Mann – Whitney καθώς και του ελέγχου Wilcoxon. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του Στατιστικού Πακέτου SPSS for Windows, version 20.0, ενώ ως επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας επιλέχθηκε το 5%.

β. Παρουσίαση του δείγματος

Στην παρούσα μελέτη συμμετείχαν 40 ασθενείς που ικανοποιούσαν τα ορισθέντα κριτήρια εισόδου. Οι ασθενείς τυχαιοποιημένα χωρίστηκαν σε δύο ομάδες, ανάλογα με την χρήση της Εξωσωματικής Κυκλοφορίας (Ε/Κ) στη στεφανιαία χειρουργική. Στην Ομάδα Α (CCABG) η αορτοστεφανιαία παράκαμψη θα εκτελούνταν με τη χρήση της Ε/Κ ενώ στην Ομάδα Β (OPCAB) χωρίς τη χρήση Ε/Κ.

Τα περιγραφικά στοιχεία για τις ποιοτικές και ποσοτικές μεταβλητές της Ομάδας Α φαίνονται στους Πίνακες 7.1 και 7.2.

Πίνακας 7.1 Περιγραφικά στοιχεία για τις ποιοτικές μεταβλητές της Ομάδας Α (CCABG)

ΜΕΤΑΒΛΗΤΗ		ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ
ΦΥΛΟ	MALE	18 → 90.00%
	FEMALE	2 → 10.00%
ΕΦ	GOOD	20 → 100.00%
	MODERATE	0 → 0.00%

Πίνακας 7.2 Περιγραφικά στοιχεία για τις ποσοτικές μεταβλητές της Ομάδας Α (CCABG)

ΜΕΤΑΒΛΗΤΗ	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	MIN	MAX
ΗΛΙΚΙΑ	60.90	11.38	39	75
No ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΩΝ	3.80	0.77	2	5
EUROSCORE	1.60	1.569	0	5

Τα περιγραφικά στοιχεία για τις ποιοτικές και ποσοτικές μεταβλητές της Ομάδας Β φαίνονται στους Πίνακες 8.1 και 8.2.

Πίνακας 8.1 Περιγραφικά στοιχεία για τις ποιοτικές μεταβλητές της Ομάδας Β (OPCAB)

ΜΕΤΑΒΛΗΤΗ		ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ
ΦΥΛΟ	MALE	16 → 80.00%
	FEMALE	4 → 20.00%
ΕΦ	GOOD	14 → 70.00%
	MODERATE	6 → 30.00%

Πίνακας 8.2 Περιγραφικά στοιχεία για τις ποσοτικές μεταβλητές της Ομάδας Β (OPCAB)

ΜΕΤΑΒΛΗΤΗ	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	MIN	MAX
ΗΛΙΚΙΑ	65.80	8.030	50	75
No ΜΟΣΧΕΥΜΑΤΩΝ	2.45	0.82	1	4
EUROSCORE	2.35	1.424	0	4

Για κάθε ένα ασθενή υπολογίστηκαν οι μεταβλητές MMP-9, MMP-13, TIMP-1 και TIMP-4, σε τέσσερις χρονικές στιγμές. Οι τιμές των μεταβλητών στις τέσσερις χρονικές στιγμές καταγράφονται στον Πίνακα 9.

Πίνακας 9: Οι τιμές των μεταβλητών στις τέσσερις χρονικές στιγμές στις δυο ομάδες

CCABG ΔΕΙΓΜΑΤΑ					OPCAB ΔΕΙΓΜΑΤΑ				
A	MMP-9 ng/ml	MMP-13 ng/ml	TIMP-1 ng/ml	TIMP-4 pg/ml		MMP-9 ng/ml	MMP-13 ng/ml	TIMP-1 ng/ml	TIMP-4 pg/ml
01.01	2844	0,43	587	2052	01.01	1889	0,30	609	6544
01.02	2441	0,46	296	1642	01.02	1503	0,30	288	5700
01.03	3153	0,44	281	2488	01.03	1117	0,30	253	5950
01.04	2667	0,43	374	2766	01.04	623	0,35	339	4488
02.01	2232	0,43	746	1197	02.01	1009	0,28	441	1151
02.02	1525	0,46	162	771	02.02	1204	0,29	212	1190
02.03	1777	0,43	330	1722	02.03	1220	0,30	259	1085
02.04	2187	0,47	219	1142	02.04	695	0,28	383	1192
03.01	2284	0,43	924	1295	03.01	3049	0,29	300	1841
03.02	2595	0,43	346	1137	03.02	1966	0,29	187	1754
03.03	2293	0,45	498	1316	03.03	1872	0,31	205	1552
03.04	1656	0,43	558	1422	03.04	1128	0,29	286	1211
05.01	3329	0,43	593	1453	04.01	649	0,30	465	1652
05.02	3600	0,43	358	976	04.02	519	0,29	236	1365
05.03	3100	0,43	417	1243	04.03	884	0,29	169	1342
05.04	3700	0,47	493	1371	04.04	405	0,30	387	1332
06.01	2825	0,45	358	1310	05.01	490	0,29	303	2139
06.02	2685	0,43	303	1287	05.02	953	0,29	204	2450
06.03	3259	0,43	324	1140	05.03	554	0,29	162	2150
06.04	2774	0,43	434	1362	05.04	746	0,29	420	2049
07.01	2506	0,44	562	1077	06.01	1708	0,31	318	680
07.02	3223	0,44	255	1540	06.02	1402	0,30	170	540
07.03	3453	0,43	388	1456	06.03	1537	0,30	199	538
07.04	3387	0,43	522	1561	06.04	2069	0,30	285	524
08.01	2079	0,43	530	1468	07.01	1102	0,29	398	1398
08.02	3800	0,48	282	1540	07.02	1059	0,29	146	914
08.03	3055	0,45	432	1711	07.03	710	0,29	162	669
08.04	3900	0,47	600	1837	07.04	1884	0,31	274	782
09.01	3380	0,43	489	2024	08.01	375	0,28	580	1988
09.02	2989	0,43	243	1779	08.02	913	0,28	434	2161
09.03	2975	0,43	248	1814	08.03	301	0,29	202	1289
09.04	2622	0,42	456	1977	08.04	1146	0,29	534	1507
10.01	2503	0,44	626	1043	09.01	531	0,29	483	1866
10.02	2975	0,44	215	1171	09.02	294	0,30	129	1603
10.03	2763	0,44	273	1356	09.03	257	0,30	59	1537
10.04	3034	0,43	408	1290	09.04	1009	0,34	225	1617

11.01	2367	0,46	368	2368	10.01	776	0,31	472	2302
11.02	1795	0,44	160	1380	10.02	461	0,31	364	1914
11.03	1952	0,43	250	1752	10.03	692	0,30	376	1780
11.04	2489	0,44	522	1436	10.04	583	0,29	412	1590
12.01	3070	0,43	599	1502	11.01	1006	0,29	741	1791
12.02	3600	0,43	373	1513	11.02	1153	0,30	274	1649
12.03	2602	0,43	402	1543	11.03	729	0,28	294	1895
12.04	3800	0,44	486	1892	11.04	555	0,28	487	1938
13.01	3528	0,44	306	898	12.01	867	0,29	336	1759
13.02	2485	0,47	227	996	12.02	517	0,32	300	1524
13.03	3492	0,43	222	1015	12.03	1188	0,31	348	1295
13.04	2886	0,43	472	1383	12.04	953	0,30	412	1484
15.01	2306	0,46	363	791	13.01	1483	0,29	590	4339
15.02	1996	0,44	212	870	13.02	1296	0,30	308	3328
15.03	2489	0,44	171	889	13.03	2242	0,30	353	3185
15.04	1884	0,43	343	1292	13.04	2155	0,29	467	3540
16.01	2740	0,43	321	933	14.01	565	0,29	243	1447
16.02	2957	0,46	241	958	14.02	414	0,30	178	1303
16.03	3156	0,45	283	1012	14.03	459	0,30	158	1182
16.04	3292	0,43	365	1330	14.04	587	0,28	272	1237
17.01	2503	0,42	529	1001	15.01	749	0,30	301	1858
17.02	1639	0,43	156	887	15.02	399	0,30	226	1451
17.03	1820	0,43	224	705	15.03	185	0,30	111	1087
17.04	1715	0,42	288	709	15.04	453	0,29	225	1322
18.01	3309	0,43	311	1384	16.01	317	0,29	309	1319
18.02	1815	0,43	334	1295	16.02	136	0,29	279	1295
18.03	3492	0,43	243	1418	16.03	72	0,30	193	1328
18.04	2010	0,43	369	1732	16.04	253	0,29	139	1268
19.01	1781	0,46	585	1463	17.01	1543	0,32	679	3878
19.02	2551	0,44	566	1330	17.02	1193	0,29	215	4210
19.03	2688	0,43	408	1328	17.03	531	0,29	257	4078
19.04	2136	0,43	478	1672	17.04	432	0,33	533	3712
20.01	2149	0,43	815	1628	18.01	1894	0,29	370	1436
20.02	2287	0,44	135	1362	18.02	908	0,30	192	1293
20.03	2257	0,44	429	1316	18.03	688	0,31	189	1113
20.04	2782	0,43	543	1607	18.04	1126	0,29	249	983
22.01	3500	0,43	676	1456	19.01	1281	0,29	713	1588
22.02	2875	0,43	302	1058	19.02	165	0,29	186	1021
22.03	3194	0,43	382	1340	19.03	405	0,30	481	918
22.04	3243	0,43	943	1985	19.04	787	0,30	552	914
23.01	3262	0,43	558	2404	20.01	760	0,31	390	848
23.02	2869	0,46	276	1400	20.02	718	0,31	239	731
23.03	3001	0,44	243	1330	20.03	211	0,29	182	600
23.04	3169	0,48	464	2038	20.04	629	0,28	431	656

Στις τιμές των 4 μεταβλητών που μελετήθηκαν (MMP-9, MMP-13, TIMP-1, TIMP-4) καθορίστηκε ανά ομάδα, ο μέσος όρος και το τυπικό σφάλμα, η μέγιστη και ελάχιστη τιμή (Πίνακες 10.1 και 10.2).

Πίνακας 10.1: Περιγραφικά στοιχεία για τις ποσοτικές μεταβλητές της Ομάδας Α, που απεικονίζουν τις μετρήσεις στις διάφορες χρονικές στιγμές

ΜΕΤΑΒΛΗΤΗ	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	MIN	MAX
MM-9_1	2724.85	530.15	1781	3528
MM-13_1	0.4365	0.0118	0.42	0.46
TIMP-1_1	542.30	170.85	306	924
TIMP-4_1	1437.35	464.59	791	2404
MM-9_2	2635.10	657.95	1525	3800
MM-13_2	0.4435	0.0156	0.43	0.48
TIMP-1_2	272.10	98.33	135	566
TIMP-4_2	1244.60	282.69	771	1779
MM-9_3	2798.55	545.56	1777	3492
MM-13_3	0.4355	0.0075	0.43	0.45
TIMP-1_3	322.40	90.76	171	498
TIMP-4_3	1394.70	388.49	705	2488
MM-9_4	2766.65	684.09	1656	3900
MM-13_4	0.4385	0.0181	0.42	0.48
TIMP-1_4	466.85	146.51	219	943
TIMP-4_4	1590.20	428.44	709	2766

Πίνακας 10.2: Περιγραφικά στοιχεία για τις ποσοτικές μεταβλητές της Ομάδας Β, που απεικονίζουν τις μετρήσεις στις διάφορες χρονικές στιγμές

ΜΕΤΑΒΛΗΤΗ	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	MIN	MAX
MM-9_1	1102.15	670.27	317	3049
MM-13_1	0.2950	0.0105	0.28	0.32
TIMP-1_1	452.05	152.52	243	741
TIMP-4_1	2091.20	1362.78	680	6544
MM-9_2	858.65	494.24	136	1966
MM-13_2	0.2970	0.009	0.28	0.32
TIMP-1_2	238.35	75.048	129	434
TIMP-4_2	1869.80	1246.58	540	5700
MM-9_3	792.70	582.49	72	2242
MM-13_3	0.2975	0.0078	0.28	0.31
TIMP-1_3	230.60	99.69	59	481
TIMP-4_3	1728.65	1305.91	538	5950
MM-9_4	910.90	548.41	253	2155
MM-13_4	0.2985	0.0198	0.28	0.35
TIMP-1_4	365.60	117.79	139	552
TIMP-4_4	1667.30	1053.58	524	4488

Για τις ανάγκες της εργασίας και χρησιμοποιώντας τις μεταβλητές της μελέτης δημιουργήθηκαν οι ακόλουθοι λόγοι MMP-9/TIMP-1, MMP-9/TIMP-4, MMP-13/TIMP-1 και MMP-13/TIMP-4, οι οποίοι αποτελούν σημαντικό κομμάτι για την τεκμηρίωση των ερευνητικών στόχων της παρούσας μελέτης. Και στην περίπτωση αυτή υπολογίστηκαν η μέση τιμή, η τυπική απόκλιση, το μέγιστο και το ελάχιστο και για τις δύο Ομάδες και για τις 4 χρονικές στιγμές. (Πίνακες 11.1, 11.2, 11.3, 11.4 και 12.1, 12.2, 12.3, 12.4).

Πίνακας 11.1: Περιγραφικά στοιχεία για τους λόγους των μεταβλητών της Ομάδας Α, για τη χρονική στιγμή 1.

ΧΡΟΝΙΚΗ ΣΤΙΓΜΗ_1	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	ΕΛΑΧΙΣΤΟ	ΜΕΓΙΣΤΟ
MMP-9/TIMP-1	5.65	2.48	2.47	11.52
MMP-9/TIMP-4	2.06	0.71	1.00	3.93
MMP-13/TIMP-1	0.0009	0.0003	0.0005	0.0014
MMP-13/TIMP-4	0.0003	0.0001	0.0002	0.0006

Πίνακας 11.2: Περιγραφικά στοιχεία για τους λόγους των μεταβλητών της Ομάδας Α, για τη χρονική στιγμή 2.

ΧΡΟΝΙΚΗ ΣΤΙΓΜΗ_2	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	ΕΛΑΧΙΣΤΟ	ΜΕΓΙΣΤΟ
MMP-9/TIMP-1	10.35	2.85	4.51	16.89
MMP-9/TIMP-4	2.17	0.57	1.30	3.69
MMP-13/TIMP-1	0.0018	0.0006	0.0008	0.0033
MMP-13/TIMP-4	0.0003	0.00009	0.0002	0.0006

Πίνακας 11.3: Περιγραφικά στοιχεία για τους λόγους των μεταβλητών της Ομάδας Α, για τη χρονική στιγμή 3.

ΧΡΟΝΙΚΗ ΣΤΙΓΜΗ_3	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	ΕΛΑΧΙΣΤΟ	ΜΕΓΙΣΤΟ
MMP-9/TIMP-1	9.37	3.25	4.60	15.73
MMP-9/TIMP-4	2.14	0.65	1.03	3.44
MMP-13/TIMP-1	0.001	0.0004	0.0009	0.0026
MMP-13/TIMP-4	0.0003	0.00009	0.0002	0.0006

Πίνακας 11.4: Περιγραφικά στοιχεία για τους λόγους των μεταβλητών της Ομάδας Α, για τη χρονική στιγμή 4.

ΧΡΟΝΙΚΗ ΣΤΙΓΜΗ_4	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	ΕΛΑΧΙΣΤΟ	ΜΕΓΙΣΤΟ
MMP-9/TIMP-1	6.23	1.70	2.97	10.00
MMP-9/TIMP-4	1.81	0.49	0.96	2.70
MMP-13/TIMP-1	0.001	0.0003	0.0005	0.0021
MMP-13/TIMP-4	0.0002	0.00009	0.0002	0.0006

Πίνακας 12.1: Περιγραφικά στοιχεία για τους λόγους των μεταβλητών της Ομάδας Β, για τη χρονική στιγμή 1.

ΧΡΟΝΙΚΗ ΣΤΙΓΜΗ_1	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	ΕΛΑΧΙΣΤΟ	ΜΕΓΙΣΤΟ
MMP-9/TIMP-1	2.67	2.13	0.65	10.17
MMP-9/TIMP-4	0.67	0.57	0.19	2.51
MMP-13/TIMP-1	0.0007	0.0002	0.0004	0.0012
MMP-13/TIMP-4	0.0001	0.00009	0.0000	0.0005

Πίνακας 12.2: Περιγραφικά στοιχεία για τους λόγους των μεταβλητών της Ομάδας Β, για τη χρονική στιγμή 2.

ΧΡΟΝΙΚΗ ΣΤΙΓΜΗ_2	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	ΕΛΑΧΙΣΤΟ	ΜΕΓΙΣΤΟ
MMP-9/TIMP-1	3.91	2.63	0.49	10.53
MMP-9/TIMP-4	0.60	0.57	0.11	2.60
MMP-13/TIMP-1	0.001	0.0003	0.0006	0.0023
MMP-13/TIMP-4	0.0002	0.0001	0.0001	0.0006

Πίνακας 12.3: Περιγραφικά στοιχεία για τους λόγους των μεταβλητών της Ομάδας Β, για τη χρονική στιγμή 3.

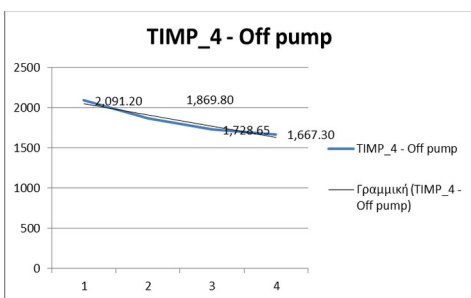
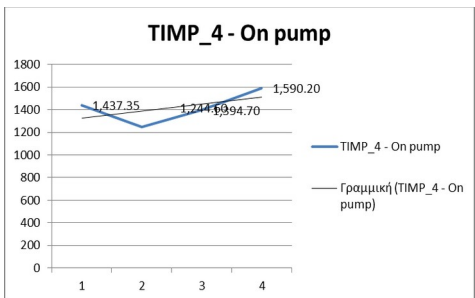
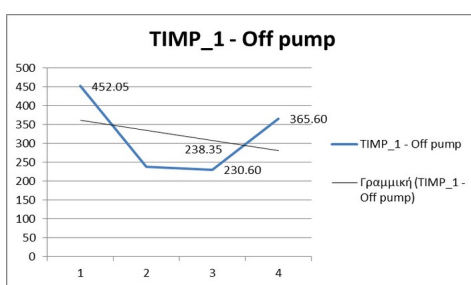
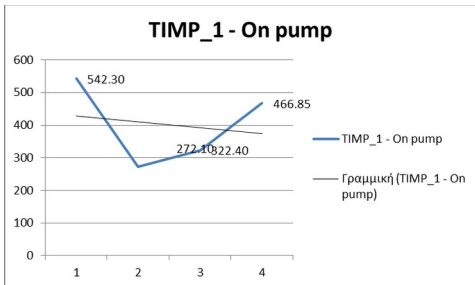
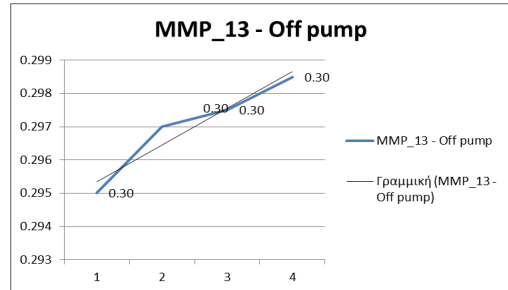
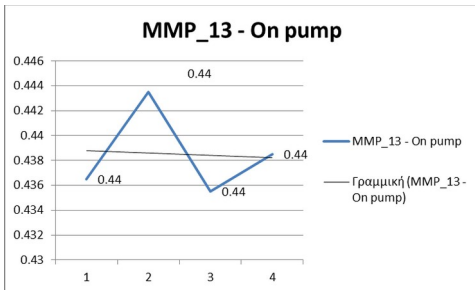
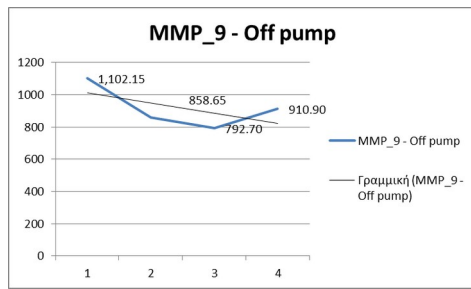
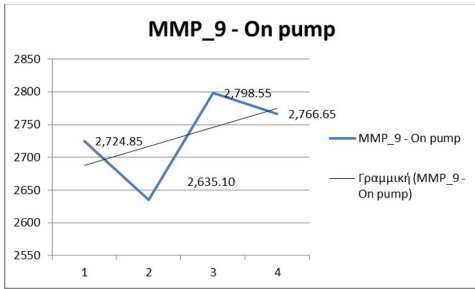
ΧΡΟΝΙΚΗ ΣΤΙΓΜΗ_3	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	ΕΛΑΧΙΣΤΟ	ΜΕΓΙΣΤΟ
MMP-9/TIMP-1	3.57	2.29	0.37	9.11
MMP-9/TIMP-4	0.61	0.63	0.05	2.86
MMP-13/TIMP-1	0.001	0.0009	0.0006	0.05
MMP-13/TIMP-4	0.0002	0.0001	0.0001	0.0006

Πίνακας 12.4: Περιγραφικά στοιχεία για τους λόγους των μεταβλητών της Ομάδας Β, για τη χρονική στιγμή 4.

ΧΡΟΝΙΚΗ ΣΤΙΓΜΗ_4	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ	ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ	ΕΛΑΧΙΣΤΟ	ΜΕΓΙΣΤΟ
MMP-9/TIMP-1	2.74	1.89	0.81	7.26
MMP-9/TIMP-4	0.80	0.68	0.12	3.95
MMP-13/TIMP-1	0.0009	0.0003	0.0005	0.0021
MMP-13/TIMP-4	0.0002	0.0001	0.0001	0.0006

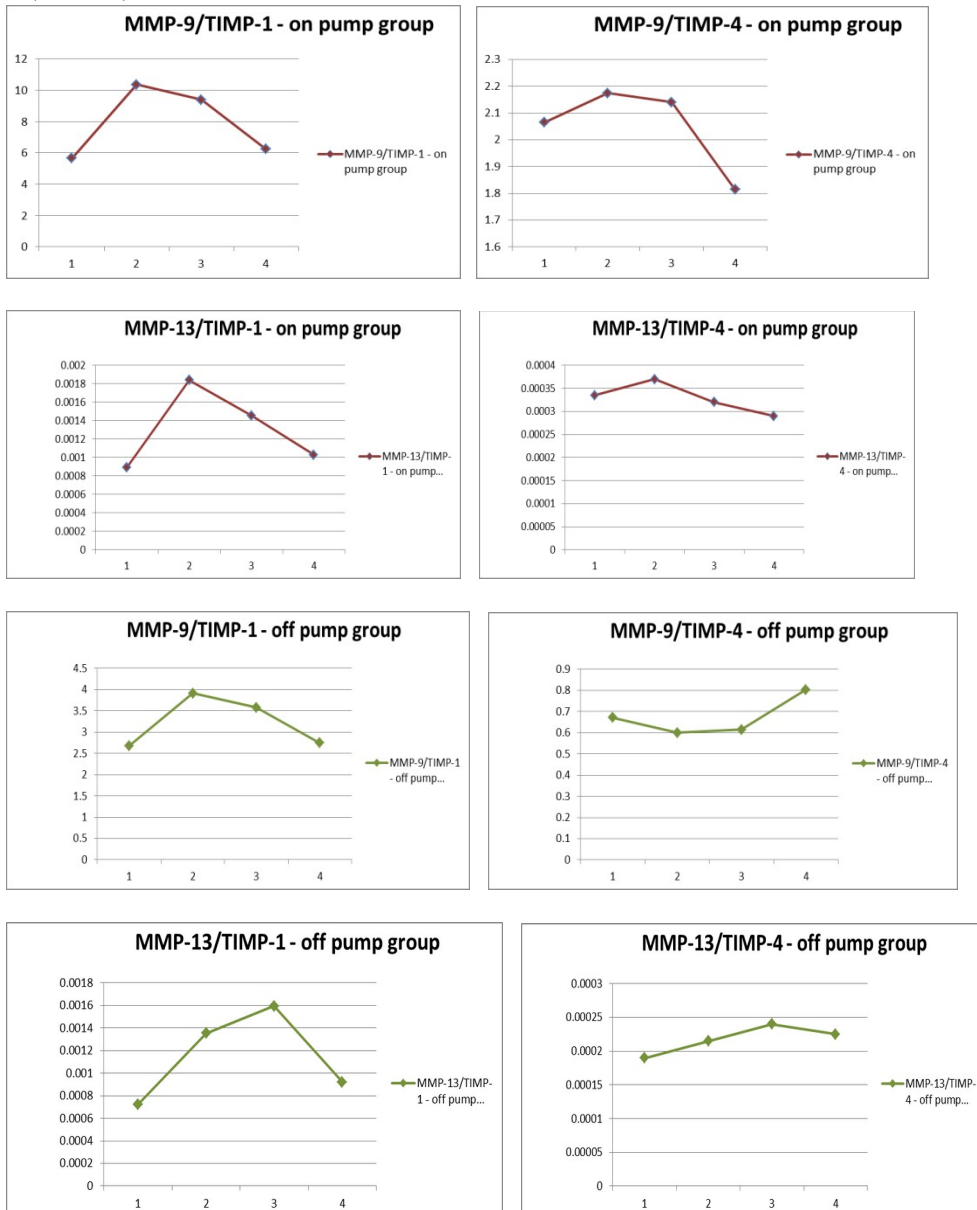
Τα γραφήματα των μέσων τιμών των 4 μεταβλητών (MMP-9, MMP-13, TIMP-1, TIMP-4), ανά χρονική στιγμή και ανά Ομάδα (CCABG, OPCAB), απεικονίζονται στο Σχήμα 14.

Σχήμα: 14 Γραφική απεικόνιση των μέσων τιμών των μεταβλητών *MMP-9*, *MMP-13*, *TIMP-1*, *TIMP-4* ανά χρονική στιγμή για την Ομάδα Α (*CCABG*) και Ομάδα Β (*OPCAB*).



Τα γραφήματα των μέσων τιμών των 4 λόγων (MMP-9/TIMP-1, MMP-9/TIMP-4, MMP-13/TIMP-1 και MMP-13/TIMP-4), ανά χρονική στιγμή και ανά Ομάδα (CCABG, OPCAB), απεικονίζονται στον Σχήμα: 15.

Σχήμα: 15 Γραφική απεικόνιση των μέσων τιμών των λόγων MMP-9/TIMP-1, MMP-9/TIMP-4, MMP-13/TIMP-1 και MMP-13/TIMP-4 ανά χρονική στιγμή για την Ομάδα Α (CCABG) και Ομάδα Β (OPCAB).



γ. Έλεγχοι κανονικότητας

Οι ποσοτικές μεταβλητές «Ηλικία», «Νο Μοσχευμάτων» και «Euroscore» μελετήθηκαν σχετικά με την κανονικότητα τους και στις δυο Ομάδες. Ο στατιστικός έλεγχος που χρησιμοποιήθηκε για την περίπτωση αυτή είναι ο έλεγχος κανονικότητας Shapiro-Wilk, που εφαρμόστηκε σε επίπεδο σημαντικότητας 95%, όπως άλλωστε και όλοι οι υπόλοιποι έλεγχοι. (Πίνακες Π 1.1 και Π 1.2).

Από τη μελέτη αυτή προέκυψε ότι στην Ομάδα Α η μεταβλητή «Ηλικία» δεν ακολουθεί κανονική κατανομή σύμφωνα με τον έλεγχο Shapiro-Wilk, ενώ ακολουθεί κανονική κατανομή στην Ομάδα Β. Όσο δε αφορά την μεταβλητή «Νο μοσχευμάτων», αυτή ακολουθεί κανονική κατανομή με τον έλεγχο Shapiro-Wilk και στις δυο Ομάδες. Η δε μεταβλητή «Euroscore» δεν ακολουθεί κανονική κατανομή με τον έλεγχο Shapiro-Wilk και στις δυο Ομάδες. Πραγματοποιήθηκε και γραφικός έλεγχος, προκειμένου να διαπιστωθεί εάν η μορφή της καμπύλης είναι συναφής με την κωδωνοειδή. Οι συγκεκριμένοι έλεγχοι παρουσιάζονται στο Παράρτημα (Σχήματα Π1.1 και Π1.2).

Όσον αφορά τον έλεγχο κανονικότητας στις ποσοτικές μεταβλητές της μελέτης (MMP-9, MMP-13, TIMP-1, TIMP-4), εφαρμόστηκαν οι ίδιοι έλεγχοι. Τα αποτελέσματα του ελέγχου Shapiro-Wilk παρουσιάζονται στο Παράρτημα και στους Πίνακες Π 2.1 και Π 2.2, ενώ η γραφική επιβεβαίωση παρουσιάζεται στα Σχήματα Π 2.1 και Π 2.2

Από την παραπάνω μελέτη προέκυψε ότι η πλειοψηφία των μεταβλητών που αφορούν τις μετρήσεις ακολουθεί κανονική κατανομή. Λόγω όμως των όσων απέχουν από την κανονική κατανομή, αποφασίστηκε να γίνει χρήση μη παραμετρικών μεθόδων για πιο αυστηρή και αξιόπιστη ανάλυση.

δ. Έλεγχοι υποθέσεων

Για τον έλεγχο πιθανής συσχέτισης μεταξύ των αρχικών τιμών (χρονική στιγμή 1-baseline) των μεταβλητών, του «No Μοσχευμάτων» και του «Euroscore» ανά ομάδα, έγινε χρήση του μη παραμετρικού ελέγχου Spearman. Ο έλεγχος πραγματοποιήθηκε σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας 5%.

Στην συνεχεία πραγματοποιήθηκαν έλεγχοι εντός κάθε μιας Ομάδας, προκειμένου να διαπιστωθεί αν υφίστανται συσχετίσεις μεταξύ των τιμών που εμφανίζουν οι μεταβλητές (MMP-9, MMP-13, TIMP-1, TIMP-4) στις διαφορές χρονικές στιγμές. Για τον έλεγχο αυτό, εφαρμόστηκε ο μη παραμετρικός συντελεστής του Spearman. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ανά ομάδα στους πίνακες του Παραρτήματος Π3 για την Ομάδα Α και Π4 για την Ομάδα Β. Οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σημειώνονται με κίτρινο χρωματισμό.

Κατόπιν και για τις ανάγκες της ανάλυσης, πραγματοποιήθηκαν έλεγχοι εντός κάθε Ομάδας προκειμένου να διαπιστωθεί αν υφίστανται συσχετίσεις της κάθε μιας μεταβλητής από τις υπόλοιπες μεταβλητές στις διάφορες χρονικές στιγμές. Οι συσχετίσεις πραγματοποιήθηκαν και πάλι με την χρήση του μη παραμετρικού συντελεστή του Spearman. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ανά ομάδα στους πίνακες του Παραρτήματος Π3 για την Ομάδα Α και Π4 για την Ομάδα Β. Οι στατιστικά σημαντικές διαφορές σημειώνονται με κίτρινο χρωματισμό.

Επίσης γίνεται σύγκριση ανά χρονική στιγμή, μεταξύ των τεσσάρων λόγων που σχηματίστηκαν για τις ανάγκες της ανάλυσης στην Ομάδα Α και στην Ομάδα Β. Για το σκοπό αυτό επιλέχθηκε να γίνει χρήση του μη παραμετρικού ελέγχου Wilcoxon, ο οποίος είναι αντίστοιχος του t-test, για τις περιπτώσεις του μικρού αριθμού παρατηρήσεων και για τη σύγκριση ανά περίπτωση. Ο συγκεκριμένος έλεγχος – όπως και όλοι οι προηγούμενοι – πραγματοποιήθηκε σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας 5%, ενώ τα αποτελέσματα παρουσιάζονται και

σχολιάζονται ξεχωριστά για τις δύο ομάδες. Τα αποτελέσματα από τον παραπάνω έλεγχο φαίνονται στους πίνακες του Παραρτήματος Π5 για την Ομάδα Α και Π6 για την Ομάδα Β.

Στη συνέχεια παρουσιάζονται γραφικά, οι ποσοστιαίες μεταβολές των μέσων τιμών των μεταβλητών, για το σύνολο των χρονικών στιγμών. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι, συγκρίνοντας τις μεταβολές των τιμών των μεταβλητών και των λόγων ανά χρονική στιγμή, μεταξύ των δύο ομάδων, οι πιο έντονες διαφορές κατά πλειοψηφία σημειώνονται στην Ομάδα Α. Σημειώνεται επίσης ότι, οι μεταβολές έχουν υπολογισθεί με βάση την πιο τελευταία χρονική στιγμή από τις συγκρινόμενες. Τα γραφήματα από τον παραπάνω έλεγχο φαίνονται στα Σχήματα του Παραρτήματος Π3.1 και Π3.2.

3. ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

α. Βαρύτητα χειρουργικής επέμβασης και καρδιοχειρουργικός κίνδυνος

Η βαρύτητα της καρδιοχειρουργικής επέμβασης στους ασθενείς της μελέτης αυτής θεωρήσαμε ότι μπορεί να εκφραστεί από την προεγχειρητική εκτίμηση του Euroscore καθώς και από τη βαρύτητα της στεφανιαίας νόσου, εκφραζόμενη με τον αριθμό (No) των απαιτούμενων μοσχευμάτων.

Έτσι για διαπιστωθεί κατά πόσον η βαρύτητα της υπάρχουσας στεφανιαίας νόσου και ο περιεγχειρητικός κίνδυνος επηρεάζουν την αρχική τιμή των μεταβλητών μας, έγινε έλεγχος πιθανής συσχέτισης μεταξύ των αρχικών τιμών (χρονική στιγμή T1- baseline) των MMP-9, MMP-13, TIMP-1, TIMP-4, και του «No Μοσχευμάτων» αφενός και του «Euroscore» αφ' ετέρου, ανά ομάδα.

Από τον παραπάνω έλεγχο διαπιστώσαμε ότι δεν υφίσταται καμιά συσχέτιση στατιστικά σημαντική. (Πίνακες 13.1 και 13.2)

***Πίνακας 13.1:** Συσχετίσεις μεταξύ των τιμών των μεταβλητών την T1- baseline και του «No Μοσχευμάτων» για την Ομάδα Α (παρουσιάζεται το p-value)*

ΜΕΤΑΒΛΗΤΗ	No μοσχευμάτων	MMP_9_1	MMP_13_1	TIMP_1_1	TIMP_4_1	EuroSCORE
No μοσχευμάτων	-	0.123	0.696	0.889	0.448	0.911
MMP_9_1	0.123	-	0.381	0.173	0.833	0.969
MMP_13_1	0.696	0.381	-	0.217	0.502	0.267
TIMP_1_1	0.889	0.173	0.217	-	0.286	0.516
TIMP_4_1	0.448	0.833	0.502	0.286	-	0.502
EuroSCORE	0.911	0.969	0.267	0.516	0.502	-

***Πίνακας 13.2:** Συσχετίσεις μεταξύ των τιμών των μεταβλητών την T1- baseline και του «No Μοσχευμάτων» για την Ομάδα Β (παρουσιάζεται το p-value)*

ΜΕΤΑΒΛΗΤΗ	No	MMP_9_1	MMP_13_1	TIMP_1_1	TIMP_4_1	EuroSCORE
-----------	----	---------	----------	----------	----------	-----------

	μοσχευμάτων					
Νο μοσχευμάτων	-	0.218	0.223	0.931	0.586	0.619
MMP_9_1	0.218	-	0.352	0.405	0.900	0.476
MMP_13_1	0.223	0.352	-	0.857	0.637	0.578
TIMP_1_1	0.931	0.405	0.857	-	0.083	0.267
TIMP_4_1	0.586	0.900	0.637	0.083	-	0.099
EuroSCORE	0.619	0.476	0.578	0.267	0.099	-

Συνάγεται λοιπόν ότι η αρχική τιμή των MMP-9 και MMP-13 καθώς και των TIMP-1 και TIMP-4 δεν σχετίζονται με τον καρδιοχειρουργικό κίνδυνο εκτιμώμενο με το EuroSCORE, αλλά ούτε και με τη βαρύτητα της στεφανιαίας νόσου εκτιμώμενης με τον αριθμό των απαιτούμενων μοσχευμάτων.

β. Έγχειρήσεις CCABG

Χειρουργικοί χρόνοι και βλαπτικές επιδράσεις

Σύμφωνα με το πρωτόκολλο της μελέτης, στην Ομάδα Α ελήφθησαν τέσσερα δείγματα σε τέσσερεις χρονικές στιγμές: πριν την τομή του δέρματος (T1), μετά την άρση αορτικού αποκλεισμού (T2), πριν την αναστροφή της ηπαρίνης με πρωταμίνη (T3) και κατά τη συρραφή του δέρματος (T4). Οι παραπάνω χρονικές στιγμές είναι συνυφασμένες με μια σειρά ερεθισμάτων, τα οποία ενεργοποιούν ουσίες-μεσολαβητές, οι οποίες με τη σειρά τους πυροδοτούν μια αλληλουχία φυσιολογικών και παθολογικών διαδικασιών.

Η χρονική στιγμή T1 (τομή δέρματος) αποτελεί την αρχική τιμή και προηγείται όλων των ερεθισμάτων. Μετά τη χρονική αυτή στιγμή, πρώτα εμφανίζεται το τραύμα από την επαφή του αίματος με το κύκλωμα της Ε/Κ και μετά ακολουθεί το τραύμα γενικευμένης Ισχαιμίας, αποτέλεσμα του αορτικού αποκλεισμού.

Η χρονική στιγμή T2 (άρση αορτικού αποκλεισμού) σχετίζεται με το τέλος της περιόδου γενικευμένης Ισχαιμίας και με την εμφάνιση του τραύματος Επαναιμάτωσης.

Η χρονική στιγμή T3 (αναστροφή ηπαρίνης) σχετίζεται με τη διακοπή του τραύματος λόγω επαφής του αίματος με το κύκλωμα της Ε/Κ, με το τέλος του τραύματος Επαναιμάτωσης, καθώς και με την αιμοδυναμική σταθεροποίηση του ασθενούς.

Η χρονική στιγμή T4 (συρραφή δέρματος) σχετίζεται με το τέλος της επέμβασης.

Βάσει των ανωτέρω χρονικών στιγμών δημιουργούνται ανάλογα χρονικά διαστήματα. (Σχήμα 11) Από αυτά κλινικό ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα ακόλουθα:

Διάστημα T1–T3: Το διάστημα αυτό χαρακτηρίζεται από την επίδραση του τραύματος από την επαφή του αίματος με το κύκλωμα της Ε/Κ και από το τραύμα Ισχαιμίας /Επανακυκλοφορίας.

Διάστημα T3– T4: Το διάστημα αυτό χαρακτηρίζεται από τη άρση όλων των βλαπτικών ερεθισμάτων.

Διάστημα T1–T2: Το διάστημα αυτό χαρακτηρίζεται από την επίδραση του τραύματος από την επαφή του αίματος με την Ε/Κ.

Διάστημα T2–T3: Το διάστημα αυτό χαρακτηρίζεται από την επίδραση του τραύματος Ισχαιμίας /Επαναιμάτωσης.

Η MMP-9 στις χρονικές στιγμές T1 και T3:

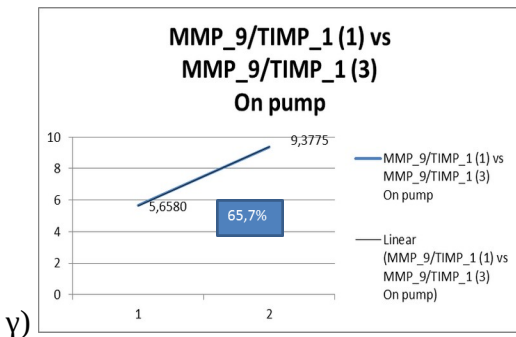
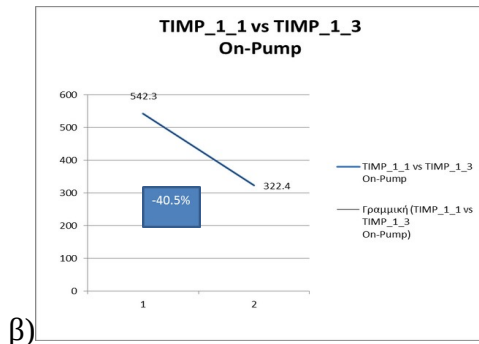
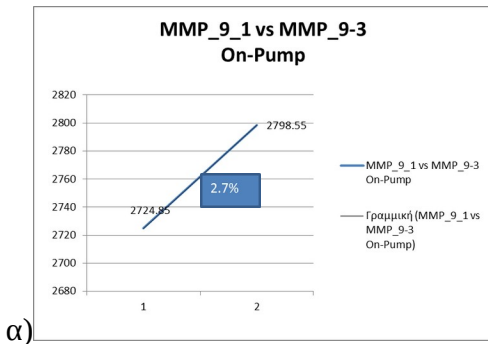
Η MMP-9 εμφανίζει στατιστικά σημαντική αύξηση της μέσης τιμής της, κατά τη χρονική στιγμή T3, σε σχέση με την αρχική τιμή T1.

Αντίστοιχα, κατά τις ίδιες χρονικές στιγμές, παρατηρείται μείωση της μέσης τιμής της TIMP-1.

Από τη μελέτη των στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων φαίνεται ότι η μέση τιμή της MMP-9 έχει αρνητική συσχέτιση με τη μέση τιμή του TIMP-1.

Από τη μελέτη των λόγων, παρατηρείται ότι ο λόγος MMP-9/TIMP-1 παρουσιάζεται αυξημένος κατά την ίδια χρονική περίοδο. (Σχήμα 16)

Σχήμα 16: Οι συσχετίσεις μεταξύ των χρονικών στιγμών T1 και T3. α) Η MMP-9 παρουσιάζει ανοδική πορεία ($p\text{-value} = 0.003$), β) Ο TIMP-1 παρουσιάζει πτωτική πορεία ($p\text{-value}=0.001$), γ) Ο λόγος MMP-9/TIMP-1 παρουσιάζει ανοδική πορεία ($p\text{-value}<0.001$)



Συνάγεται λοιπόν ότι κατά το διάστημα T1-T3 η επίδραση του τραύματος που προκαλείται από την επαφή του αίματος με το κύκλωμα της Ε/Κ καθώς και η επίδραση του τραύματος Ισχαιμίας / Επαναιμάτωσης έχουν σαν αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της MMP-9 και την αύξηση των επιπέδων της την T3 χρονική στιγμή. Άμεση συνέπεια αυτού είναι η μείωση των επιπέδων του TIMP-1 την T3

χρονική στιγμή, λόγω ενδογενούς προσπάθειας του οργανισμού να δεσμεύσει μέρος από την παραγόμενη MMP-9. Η συσχέτιση αυτή ενισχύεται από το γεγονός ότι αφενός μεν ο λόγος MMP-9/TIMP-1 εμφανίζεται αυξημένος κατά τη χρονική στιγμή T3, αφετέρου δε από το γεγονός ότι από τον έλεγχο συσχετίσεων φαίνεται ότι οι μεταβολές της MMP-9 σχετίζονται αρνητικά με τον TIMP-1, στις χρονικές στιγμές T1 και T3.

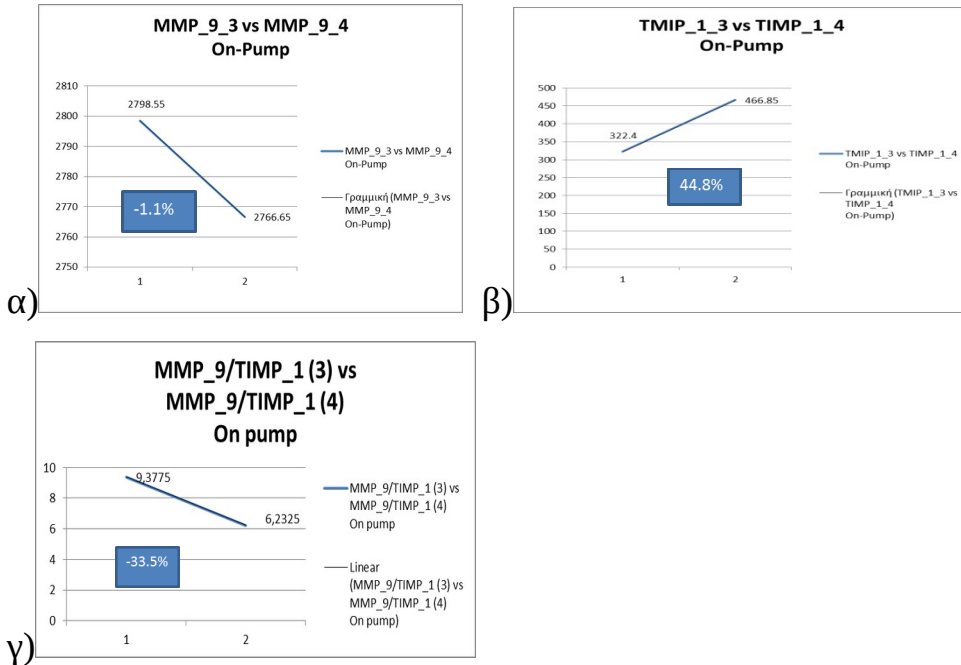
Η MMP-9 στις χρονικές στιγμές T3 και T4:

Η MMP-9 εμφανίζει στατιστικά σημαντική μείωση της μέσης τιμής της κατά τη σύγκλιση του δέρματος (T4) σε σχέση με την προηγούμενη χρονική στιγμή T3. Η μείωση αυτή συνοδεύεται από αύξηση των μέσων τιμών TIMP-1 και TIMP-4, κατά τις ίδιες χρονικές στιγμές.

Από τη μελέτη των στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων φαίνεται ότι οι μεταβολές των επιπέδων της MMP-9 και των TIMP-1, TIMP-4 δεν συσχετίζονται άμεσα μεταξύ τους. (Σχήμα 17)

Συνάγεται λοιπόν ότι κατά το διάστημα T3-T4, η άρση όλων των βλαπτικών ερεθισμάτων έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση των επιπέδων της MMP-9 κατά την χρονική στιγμή T4 σε σχέση με την χρονική στιγμή T3. Η μείωση αυτή δεν σχετίζεται με καμιά μεταβολή των TIMP-1 ή TIMP-4. Επομένως η μείωση της MMP-9 δεν αποδίδεται στην ενδογενή αναστολή της από τους TIMPs, αλλά σχετίζεται με την άρση των ερεθισμάτων (αποσύνδεση από την E/K) που παρατηρείται στο χρονικό διάστημα T3-T4.

Σχήμα 17: Οι συσχετίσεις μεταξύ των χρονικών στιγμών T3 και T4. α) Η MMP-9 παρουσιάζει πτωτική πορεία (p -value = 0.059), β) Ο TIMP-1 παρουσιάζει ανοδική πορεία (p -value=0.002), γ) Ο λόγος MMP-9/TIMP-1 παρουσιάζει πτωτική πορεία (p -value<0.001)



Η MMP-9 στη χρονική στιγμή T2:

Η MMP-9, κατά τη χρονική στιγμή T2, σχετίζεται θετικά με την TIMP-1, δηλαδή η αύξηση της μέσης τιμής της TIMP-1 σχετίζεται με αύξηση της μέσης τιμής της MMP-9. (p -value = 0.030)

Συνάγεται λοιπόν ότι η αύξηση των επιπέδων της MMP-9, που προκαλείται από την επαφή του αίματος με το κύκλωμα της Ε/Κ και την γενικευμένη Ισχαιμία - μέχρι την χρονική στιγμή T2 -, έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων του ενδογενούς αναστολέα TIMP-1, λόγω παραγωγής του από τον οργανισμό για την αναστολή της ανεπιθύμητης αύξησης της MMP-9.

Η MMP-13:

Η MMP-13 δεν εμφανίζει στατιστικά σημαντικές μεταβολές, ούτε στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις με τα επίπεδα των TIMP-1 και TIMP-4 και στις τέσσερις χρονικές στιγμές.

Συνάγεται λοιπόν ότι δεν υπάρχει κάποια συσχέτιση μεταξύ ενεργοποίησης της MMP-13 και αναστολής της από τους TIMP-1 και TIMP-4.

γ. Έγχειρήσεις OPCAB

Χειρουργικοί χρόνοι και βλαπτικές επιδράσεις

Σύμφωνα με το πρωτόκολλο της μελέτης και στην Ομάδα Β ελήφθησαν τέσσερα δείγματα σε τέσσερις χρονικές στιγμές: πριν την τομή του δέρματος (T1), μετά το τέλος των περιφερικών αναστομών/χειρουργικών χειρισμών (T2), πριν την αναστροφή της ηπαρίνης με πρωταμίνη (T3) και κατά τη συρραφή του δέρματος (T4).

Οι παραπάνω χρονικές στιγμές είναι και αυτές συνυφασμένες με μια σειρά ερεθισμάτων, τα οποία ενεργοποιούν ούσιες-μεσολαβητές, οι οποίες με τη σειρά τους πυροδοτούν μια αλληλουχία φυσιολογικών και παθολογικών διαδικασιών.

Η χρονική στιγμή T1 (τομή δέρματος) αποτελεί την αρχική τιμή και προηγείται όλων των ερεθισμάτων. Μετά τη χρονική αυτή στιγμή ακολουθεί μια χρονική περίοδος που χαρακτηρίζεται από διαλείπουσα τοπική ισχαιμία, λόγω των αναστομών αλλά και των χειρουργικών χειρισμών (μετακίνηση της καρδιάς σε θέσεις όπου διευκολύνεται η έκθεση των στεφανιαίων αγγείων).

Η χρονική στιγμή T2 (τέλος περιφερικών αναστομών) σχετίζεται με το τέλος της περιόδου διαλείπουσας τοπικής Ισχαιμίας.

Η χρονική στιγμή T3 (αναστροφή ηπαρίνης) σχετίζεται με την πλήρη αιμοδυναμική αποκατάσταση του ασθενούς.

Η χρονική στιγμή T4 (συρραφή δέρματος) σχετίζεται με το τέλος της επέμβασης.

Βάσει των ανωτέρω χρονικών στιγμών δημιουργούνται ανάλογα χρονικά διαστήματα. (Σχήμα 12) Κλινικό ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα ακόλουθα:

Διάστημα T1–T2: Το διάστημα αυτό χαρακτηρίζεται από την επίδραση του τραύματος που προκαλείται από τις διακοπτόμενες φάσεις τοπικής ισχαιμίας.

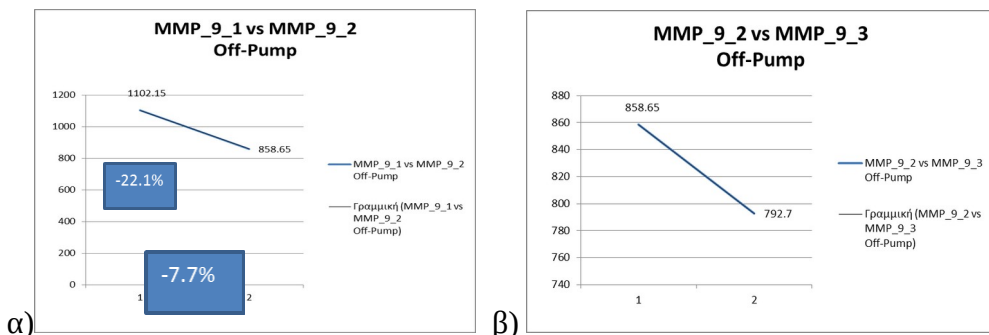
Διάστημα T2–T3: Το διάστημα αυτό χαρακτηρίζεται από την επίδραση του τραύματος Ισχαιμίας /Επαναιμάτωσης.

Διάστημα T3–T4: Το διάστημα αυτό χαρακτηρίζεται από την άρση κάθε βλαπτικού ερεθίσματος.

Η MMP-9 στα χρονικά διαστήματα T1-T2 και T2-T3:

Η MMP-9 εμφανίζει στατιστικά σημαντική μείωση της μέσης τιμής της κατά τη χρονική στιγμή T2, σε σχέση με τη αρχική τιμή T1. Επίσης εμφανίζει στατιστικά σημαντική μείωση της μέσης τιμής της, κατά την χρονική στιγμή T3, σε σχέση με τη αρχική τιμή T2. Η πτωτική αυτή πορεία της μέσης τιμής της MMP-9 συνοδεύεται και από αντίστοιχη μείωση των μέσων τιμών των TIMP-1 και TIMP-4, κατά τα ίδια χρονικά διαστήματα. Από τη μελέτη των συσχετίσεων φαίνεται ότι οι παραπάνω μεταβολές δεν σχετίζονται μεταξύ τους. (Σχήμα 18)

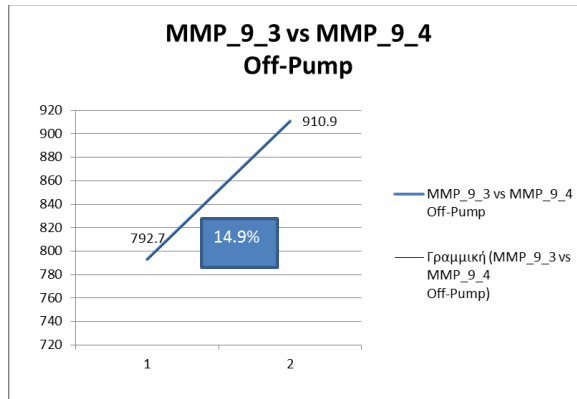
Σχήμα 18: α) Η MMP-9 παρουσιάζει πτωτική πορεία μεταξύ των χρονικών στιγμών T1 και T2 ($p\text{-value} = 0.002$), β) Η MMP-9 παρουσιάζει πτωτική πορεία μεταξύ των χρονικών στιγμών T2 και T3 ($p\text{-value} < 0.001$)



Η MMP-9 στις χρονικές στιγμές T3 και T4:

Η MMP-9 εμφανίζει μη στατιστικά σημαντική αύξηση στη μέση τιμή της, μεταξύ των χρονικών στιγμών T3 και T4. Στις ίδιες χρονικές στιγμές διαπιστούται στατιστικά σημαντική αύξηση των μέσων τιμών της TIMP-1 και στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων της TIMP-4. Από τη μελέτη των συσχετίσεων φαίνεται ότι οι παραπάνω μεταβολές δεν σχετίζονται σημαντικά μεταξύ τους. (Σχήμα 19)

Σχήμα 19: Η MMP-9 παρουσιάζει ανοδική πορεία μεταξύ των χρονικών στιγμών T3 και T4 ($p\text{-value} = 0.059$).



Συνάγεται λοιπόν ότι κατά το διάστημα T1-T2 η επίδραση του τραύματος, που προκαλείται από τις διακοπόμενες φάσεις τοπικής ισχαιμίας, δεν προκαλεί ενεργοποίηση της MMP-9. Επίσης κατά το διάστημα T2-T3 η επίδραση του τραύματος Επαναιμάτωσης δεν προκαλεί ενεργοποίηση της MMP-9. Αντίθετα και στα δύο παραπάνω διαστήματα τα επίπεδα της MMP-9 εμφανίζονται μειούμενα. Κατά δε το διάστημα T3-T4, παρά την άρση κάθε βλαπτικής επίδρασης (του τραύματος που προκαλείται από τις διακοπόμενες φάσεις τοπικής Ισχαιμίας και του τραύματος Επαναιμάτωσης), τα επίπεδα της MMP-9 εμφανίζουν ανοδική πορεία.

Από την ανάλυση των φυσιολογικών και παθοφυσιολογικών δρώμενων στα αντίστοιχα χρονικά διαστήματα, φαίνεται ότι το μόνο ερέθισμα που μπορεί να προκαλεί πτώση των επιπέδων της MMP-9 κατά τα διαστήματα T1-T2 και T2-T3 είναι η αιμοαραίωση. Η αναισθησιολογική πρακτική, κατά την περίοδο των χειρουργικών χειρισμών (T1-T2), ως μέσο σταθεροποίησης των αιμοδυναμικών παραμέτρων χρησιμοποιεί τη χορήγηση υγρών. Κατά το διάστημα T3-T4, λόγω αιμοδυναμικής σταθεροποίησης του ασθενούς, δεν υπάρχει ανάγκη χορήγησης υγρών, αντίθετα με τη χρήση διουρητικών επιδιώκεται η απομάκρυνση των περίσσιων υγρών. Έτσι λοιπόν, η άρση της αιμοαραίωσης ερμηνεύει την παρατηρούμενη αύξηση των επιπέδων της MMP-9 στο διάστημα T3-T4. Η ερμηνεία αυτή ενισχύεται από το γεγονός ότι τα επίπεδα των TIMP-1 και TIMP-4 εμφανίζονται να ακολουθούν την ίδια πορεία στα αντίστοιχα χρονικά διαστήματα, χωρίς να υπάρχει συσχέτιση με την πορεία της MMP-9.

Η MMP-9 στη χρονική στιγμή T2:

Η MMP-9 κατά τη χρονική στιγμή T2 σχετίζεται θετικά με την MMP-9 στη χρονική στιγμή T1, δηλαδή η μείωση της μέσης τιμής της MMP-9 στη χρονική στιγμή T2 σχετίζεται με την μέση τιμή της στη χρονική στιγμή T1, (p -value = 0.002).

Συνάγεται λοιπόν ότι τα επίπεδα της MMP-9 κατά τη χρονική στιγμή του τέλους των περιφερικών αναστομώνσεων, παρόλη την επίδραση της διαλείπουσας τοπικής Ισχαιμίας, παρουσιάζονται μειωμένα σε σχέση με την αρχική τιμή και δεν σχετίζονται με την τιμή του TIMP-1 ούτε του TIMP-4, παρά μόνο με τα επίπεδα της αρχικής της τιμής στη χρονική στιγμή T1. Το γεγονός αυτό ερμηνεύει τη μείωση της τιμής των επιπέδων της MMP-9, σαν ανεξάρτητη από την αναστολή της από τους TIMPs.

Η MMP-13:

Η MMP-13 δεν εμφανίζει στατιστικά σημαντικές μεταβολές, ούτε στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις με τα επίπεδα των TIMP-1 και TIMP-4 και στις τέσσερις χρονικές στιγμές.

Συνάγεται λοιπόν ότι δεν υπάρχει κάποια συσχέτιση μεταξύ ενεργοποίησης της MMP-13 και αναστολής της από τους TIMP-1 και TIMP-4.

4.

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η Ε/Κ αποτελεί αναπόσπαστο τμήμα των περισσοτέρων καρδιοχειρουργικών επεμβάσεων. Τα τελευταία χρόνια οι σημαντικές πρόοδοι στην κατανόηση των φυσιολογικών και παθολογικών διεργασιών, που σχετίζονται με τη λειτουργία της Ε/Κ, έχουν σαν αποτέλεσμα σημαντικές τεχνολογικές εξελίξεις. Παραταύτα, η Ε/Κ δεν παύει να ενοχοποιείται για την πυροδότηση της συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης (SIRS), η οποία μπορεί να ευθύνεται για την εμφάνιση διεγχειρητικών ή /και μετεγχειρητικών επιπλοκών. Η διατμητική τάση (shear stress), η μη σφυγμική ροή (apulsatile flow), η επαφή του αίματος με το κύκλωμα της Ε/Κ, καθώς και άλλοι φυσικοί παράγοντες που σχετίζονται με την Ε/Κ, οδηγούν στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, των ουδετερόφιλων, των λεμφοκυττάρων των μονοκυττάρων και των ενδοθηλιακών κυττάρων.¹⁰¹ Αποτέλεσμα της διαδικασίας αυτής είναι η απελευθέρωση ελευθέρων ριζών, πρωτεασών, προφλεγμονωδών κυτοκινών και άλλων διαμεσολαβητών της φλεγμονής από τον οργανισμό.

Η πρόκληση συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης κατά την Ε/Κ έχει βρεθεί ότι σχετίζεται μεταξύ των άλλων και με την ενεργοποίηση των MMPs.^{101-103,112,113} Οι MMPs είναι μιά οικογένεια ενδοπεπτιδασών, η οποία διαδραματίζει εξαιρετικά σημαντικό ρόλο στην αποδόμηση όλων των συστατικών της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας (matrix), συμπεριλαμβανομένης και της βασικής μεμβράνης.^{101,142} Η διαδικασία αυτή είναι υπεύθυνη για τη διαταραχή της διαπερατότητας των αγγείων με συνέπεια το οίδημα των ιστών κατά την Ε/Κ.¹⁴³⁻

146

Η έρευνα στο πεδίο των MMPs είναι σχετικά πρόσφατη. Ο μεγάλος τους αριθμός, το πλήθος των παραγόντων με τους οποίους σχετίζεται η ενεργοποίησή

τους, το εύρος των παθολογικών και φυσιολογικών καταστάσεων στις οποίες συμμετέχουν, αποτελούν αληθινή πρόκληση για κάθε ερευνητή. Η αναγνωρισμένη πρωτεολυτική τους δράση, από τις αρχικές έρευνες, τις έκαναν γνωστές για τη συσχέτιση τους με χρόνιες καταστάσεις.¹¹⁹⁻¹²² Από πρόσφατες όμως έρευνες φαίνεται ότι εμπλέκονται και σε οξείες πρωτεολυτικές διεργασίες που δεν αφορούν την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία. Αυτές περιλαμβάνουν τη χημειοταξία των αιμοπεταλίων (aggregation), τη ρύθμιση (regulation) του αγγειακού τόνου και τη διαμόρφωση (modulation) της φλεγμονώδους αντίδρασης.¹²³⁻¹²⁶ Στα πλαίσια αυτά λοιπόν της διερεύνησης των οξέων παθολογικών καταστάσεων με τις οποίες σχετίζονται οι MMPs, έγιναν και οι πρώτες μελέτες που αφορούν στις μεταβολές των επιπέδων των MMPs κατά τη διάρκεια των καρδιοχειρουργικών επεμβάσεων με τη χρήση της Ε/Κ.^{102,112,114,116-118} Η συσχέτιση της Ε/Κ και της ενεργοποίησης των MMPs προήλθε από την παρατήρηση αυξημένης αποδομητικής δραστηριότητας στο διάμεσο χώρο, και ειδικότερα στο επίπεδο της βασικής μεμβράνης, κατά την Ε/Κ, η οποία είχε ως αποτέλεσμα την αλλαγή της γεωμετρίας του ενδοθηλίου και τη διαταραχή του ενδοθηλιακού φραγμού, με τελικό αποτέλεσμα το ιστικό οίδημα και την οργανική δεισλειτουργία.^{102,143}

Η αύξηση του αριθμού των λευκοκυττάρων και η ενεργοποίησή τους κατά την Ε/Κ είναι γνωστή από παλαιότερες έρευνες. Επίσης η παραγωγή και η ενεργοποίηση των MMPs από τα ενεργοποιημένα λευκοκύτταρα είναι και αυτή γνωστή. Η τεκμηρίωση της συσχέτισης των δύο φαίνεται από την έρευνα των Garner et al.¹⁰¹ Στη μελέτη αυτή χρησιμοποίησαν φίλτρα λευκαφαίρεσης στο κύκλωμα της Ε/Κ, σε ασθενείς που υπεβλήθησαν σε CCABG, και βρήκαν ότι έτσι ελαττώθηκαν τα επίπεδα της MMP-9, ενώ τα επίπεδα της MMP-2 παρέμειναν τα ίδια. Με τη μελέτη λοιπόν αυτή απέδειξαν εμμέσως ότι η

παραγωγή της MMP-9 σχετίζεται με την ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων, ενώ για την παραγωγή της MMP-2 δεν συμβαίνει το ίδιο.

Σε παρόμοια συμπεράσματα σχετικά με την παραγωγή MMP-9, από ενεργοποιημένα ουδετερόφιλα και αιμοπετάλια, καταλήγουν και οι μελέτες των Galt SW et al και των Schneider S et al.^{105,111}

Οι Mayers et al,¹¹⁴ μελετώντας τα επίπεδα των MMP-2, MMP-9 και TIMP-4 με ζυμογραφία, σε διάφορες χρονικές στιγμές επεμβάσεων CCABG, βρήκαν ότι υπάρχει μια ισχυρή συσχέτιση των MMP-9 και TIMP-4, η οποία εκφράζεται με άνοδο της MMP-9 και κάθοδο της TIMP-4. Η συσχέτιση αυτή αποδόθηκε στην ενεργοποίηση των ουδετερόφιλων. Επίσης σε αντίθεση με τους Garner, et al, οι Mayers et al παρατήρησαν αύξηση των επιπέδων MMP-2 κατά την Ε/Κ, την οποία απέδωσαν στην ενεργοποίηση και το τραύμα των αιμοπεταλίων κατά την Ε/Κ.¹¹⁵

Οι Joffs C, et al¹⁰² μελετώντας την ενεργοποίηση και απελευθέρωση των MMP-2, MMP-8, MMP-9 και MMP-13 κατά τη διάρκεια επεμβάσεων CCABG, βρήκαν μεταξύ άλλων, ότι τα επίπεδα των pro-MMP-9 και pro-MMP-13 αυξάνονται πάνω από δύο φορές μετά την άρση του αορτικού αποκλεισμού. Είναι γνωστό ότι οι MMPs μετά τη σύνθεσή τους απελευθερώνονται στον εξωκυττάριο χώρο με την μορφή των pro-MMPs, οι οποίες δεσμεύονται από διάφορες πρωτεΐνες και μένουν ανενεργείς μέχρι την ενεργοποίησή τους, μετά από βιοχημικές διεργασίες. Στην παραπάνω μελέτη όμως δεν αναφέρεται κατά πόσον οι ενεργοποιημένες μορφές των MMP-9 και MMP-13 παρουσιάζουν αντιστοίχες διακυμάνσεις.

Κατά τις καρδιοχειρουργικές επεμβάσεις με Ε/Κ, εκτός από την πρόκληση της συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης (SIRS) που προκαλείται από την επαφή του αίματος με το κύκλωμα της Ε/Κ, έχουμε και την εμφάνιση του «Τραύματος

Ισχαιμίας-Επαναιμάτωσης» (Ischemia-Reperfusion Injury). Το σύνδρομο αυτό αποτελεί άλλη μια οξεία διαδικασία στην οποία συμμετέχουν οι MMPs.^{104,118}

Οι Cheng et al¹²⁷ μελέτησαν την ενεργοποίηση και απελευθέρωση των MMPs σε απομονωμένες καρδιές ποντικών κατά την διάρκεια γενικευμένης ισχαιμίας (global non flow ischemia) ακολουθούμενης από επανακυκλοφορία (reperfusion). Τα αποτελέσματά τους έδειξαν ότι η MMP-2 ενεργοποιείται ενδοκυτταρίως μετά την Επαναιμάτωση, με αποτέλεσμα τη μηχανική καρδιακή δυσλειτουργία. Σε ανάλογη μελέτη οι Wang et al¹²⁸ έδειξαν ότι η MMP-2 όχι μόνο ενεργοποιείται ενδοκυτταρίως μετά από Ισχαιμία/ Επαναιμάτωση, αλλά σχετίζεται με οξεία μυοκαρδιακή Ισχαιμία, η οποία εκφράζεται με την αύξηση της αποδόμησης της μυοκαρδιακής Τροπονίνης I (Tr-I). Αποτέλεσμα των παραπάνω μελετών ήταν οι έρευνες να στραφούν στο να αποδειχτεί κατά πόσον η παραγωγή και ενεργοποίηση των MMPs κατά τη χρήση της Ε/Κ σε καρδιοχειρουργικές επεμβάσεις σχετίζεται με κλινικές επιπτώσεις.

Έτσι οι Steinberg et al¹⁰³, ενώ απέδειξαν ότι η MMP-9 αυξάνει σημαντικά μετά το τέλος της Ε/Κ, δεν μπόρεσαν να συσχετίσουν αυξημένη παραγωγή MMP-9 με διαταραχή της πνευμονικής λειτουργίας. Η συσχέτιση αυτή τεκμηριώθηκε εμμέσως από μελέτες άλλων ερευνητών, οι οποίοι με τη χρήση εξωγενών αναστολέων των MMPs ελάττωσαν την εκδήλωση της αναπνευστικής δυσλειτουργίας μετά από τη χρήση της Ε/Κ.^{109,110}

Οι Lalu MM et al¹¹⁸ μελέτησαν πρώτοι σε ανθρώπους, τις μεταβολές των MMP-2, MMP-9 καθώς και των TIMP-1, TIMP-2, και TIMP-4 μετά από CCABG και τις συσχέτισαν με την εμφάνιση απόπληκτου μυοκαρδίου μετά από το τραύμα «Ισχαιμίας- Επαναιμάτωσης».¹²⁹⁻¹³² Οι ερευνητές αυτοί περιέγραψαν επίσης την άμεση συσχέτιση της αύξησης των επιπέδων της MMP-9 και MMP-2 με την ελάττωση των επιπέδων του TIMP-1 μετά την άρση του αορτικού αποκλεισμού.

Οι Spinale et al¹³³ μελετώντας τις MMP- 2, MMP-3, MMP-7, MMP-8 και MMP-9 μετά από E/K, σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε CCABG, βρήκαν ότι μόνο οι MMP-3, MMP-7 και MMP-9 αυξάνονται μετά τη διακοπή της E/K.

Από τα παραπάνω λοιπόν φαίνεται ότι η παραγωγή και ενεργοποίηση των MMPs κατά την E/K μπορεί να είναι αποτέλεσμα της απελευθέρωσης ελευθέρων ριζών, πρωτεασών, προφλεγμονωδών κυτοκινών και άλλων διαμεσολαβητών της συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης του οργανισμού, μπορεί να είναι αποτέλεσμα του τραύματος «Ισχαιμίας- Επαναιμάτωσης». Τον βαθμό στον οποίο επηρεάζει ο κάθε ένας παράγοντας τη δραστηριότητα των MMPs δεν γίνεται σαφής από τις υπάρχουσες μελέτες, καθώς σε όλες τις μελέτες απουσιάζει η ομάδα έλεγχου, καθώς η E/K ήταν απαραίτητη σε κάθε καρδιοχειρουργική επέμβαση.

Η πρόσφατη αναβίωση της στεφανιαίας χειρουργικής χωρίς E/K δημιούργησε προϋποθέσεις για ένα ιδανικό μοντέλο έρευνας. Η στεφανιαία χειρουργική εκτελούμενη με E/K (CCABG) και χωρίς E/K (OPCAB) δίνει τη δυνατότητα να μελετήσουμε τη δραστηριότητα των MMPs σε δύο Ομάδες ασθενών που έχουν το ίδιο υπόστρωμα και θα υποβληθούν σε επέμβαση χειρουργικού τραύματος ίδιας βαρύτητας. Όμως στη μία ομάδα (CCABG) η χρήση της E/K προϋποθέτει την επαφή του αίματος με το κύκλωμα της E/K, γενικευμένη Ισχαιμία και τραύμα «Ισχαιμίας- Επαναιμάτωσης», ενώ στην άλλη ομάδα (OPCAB) δεν χρησιμοποιείται E/K, υπάρχει τοπική και διαλείπουσα ισχαιμία και κατά συνέπεια μικρότερης έκτασης τραύμα «Ισχαιμίας- Επαναιμάτωσης».

Από την προσιτή σε μας αγγλική βιβλιογραφία δύο μόνο μελέτες είναι διαθέσιμες στο διαδύκτιο, με το παραπάνω μοντέλο. Αξίζει δε να αναφερθεί ότι δημοσιεύθηκαν πολύ αργότερα από το σχεδιασμό της παρούσης μελέτης. Το 2005 λοιπόν, οι Lin et al,¹⁴⁹ χρησιμοποιώντας το μοντέλο αυτό, δημοσίευσαν ότι σε

ασθενείς που χειρουργήθηκαν με CCABG τα επίπεδα MMP-9 στο αίμα αυξάνουν σημαντικά 2 με 6 ώρες μετά την αρχή της Ε/Κ, ενώ την ίδια σταδιακή άνοδο εντός των 6 ωρών παρατήρησαν και στα επίπεδα TIMP-1. Όμως παρόλα αυτά ο λόγος MMP-9/TIMP-1 αυξάνει 2 με 4 ώρες από την αρχή της Ε/Κ. Στους ασθενείς που χειρουργήθηκαν με OPCAB τα επίπεδα MMP-9 και TIMP-1 δεν παρουσίασαν σημαντικές μεταβολές.

Το 2009, οι Sokal et al¹³⁴ συνέκριναν τις μεταβολές των MMP-2 και MMP-9, TIMP-1 και TIMP-2 σε αορτοστεφανιαία παράκαμψη με και χωρίς Ε/Κ. Αναφέρουν λοιπόν ότι στους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε CCABG τα επίπεδα της MMP-9 αυξήθηκαν δραματικά, μετά το τέλος της Ε/Κ. Η παρατηρούμενη δε αύξηση των επιπέδων TIMP-1 και TIMP-2 στην ίδια χρονική περίοδο δεν μπορεί να εξισορροπήσει την αύξηση των επιπέδων της MMP-9. Η MMP-2 αυξήθηκε και στις δύο ομάδες χωρίς αυτό να έχει στατιστικά σημαντική διαφορά. Στους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε OPCAB οι μεταβολές των MMP-2 και MMP-9, TIMP-1 και TIMP-2 δεν ήταν στατιστικά σημαντικές.

Η παρούσα προοπτική τυχαιοποιημένη συγκριτική μελέτη είχε σαν στόχο τον προσδιορισμό των επιπέδων των MMPs και των ενδογενών αναστολέων τους TIMPs στις διάφορες φάσεις της στεφανιαίας χειρουργικής με τη χρήση Ε/Κ (CCABG) και χωρίς τη χρήση Ε/Κ (OPCAB). Μελετήθηκαν δύο MMPs, μια Ζελατινάση (MMP-9) και μια Κολλαγενάση (MMP-13). Επίσης μελετήθηκαν δύο από τους ενδογενείς αναστολείς των MMPs, ο TIMP-1 και ο TIMP-4. Για την αναζήτηση συσχετίσεων μεταξύ των MMPs και των ενδογενών αναστολέων τους, μελετήθηκαν όλοι οι δυνατοί μεταξύ τους λόγοι, σαν ισχυρότερη έκφραση της συσχέτισής τους.

Από τη μελέτη των προεγχειρητικών τιμών των επιπέδων των MMP-9, MMP-13, TIMP-1 και TIMP-4 σε σχέση με τον καρδιοχειρουργικό κίνδυνο (εκτιμώμενο με

το EuroSCORE), φαίνεται ότι δεν υπάρχει καμιά συσχέτιση μεταξύ τους. Επίσης δεν υπάρχει καμιά συσχέτιση μεταξύ των αρχικών τιμών των MMP-9, MMP-13, TIMP-1 και TIMP-4 και της βαρύτητας της στεφανιαίας νόσου, (εκτιμώμενης με τον αριθμό των απαιτούμενων μοσχευμάτων).

Από τη μελέτη των επιπέδων των MMPs και των TIMPs στις διάφορες χρονικές φάσεις των επεμβάσεων των δύο ομάδων, συμπεραίνεται ότι η ζελατινάση MMP-9 και ο ενδογενής αναστολέας TIMP-1 παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διακυμάνσεις στην Ομάδα CCABG. Η κολλαγενάση MMP-13 δεν παρουσιάζει καμιά στατιστικά σημαντική διακύμανση στις διάφορες φάσεις των δύο τύπων επεμβάσεων, ούτε και συσχετίσεις με τους TIMP-1 και TIMP-4.

Έτσι λοιπόν όσον αφορά στις επεμβάσεις αορτοστεφανιαίας παράκαμψης με Ε/Κ (CCABG) προκύπτει ότι η επίδραση του τραύματος που προκαλείται από την επαφή του αίματος με το κύκλωμα της Ε/Κ και η επίδραση του τραύματος Ισχαιμίας /Επαναιμάτωσης έχουν σαν αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της MMP-9 και την αύξηση των επιπέδων της στο αίμα. Άμεση συνέπεια του γεγονότος αυτού είναι η μείωση των επιπέδων του TIMP-1, λόγω ενδογενούς προσπάθειας του οργανισμού να δεσμεύσει μέρος από την παραγόμενη MMP-9. Οι μεταβολές αυτές γίνονται εμφανείς αμέσως πριν την αποσύνδεση του ασθενούς από το κύκλωμα της Ε/Κ. Στη συνέχεια και μετά την άρση όλων των βλαπτικών παραγόντων - από την αποσύνδεση του ασθενούς από το κύκλωμα της Ε/Κ και μέχρι το τέλος της επέμβασης - η ενεργοποίηση της MMP-9 σταματά, με αποτέλεσμα τη μείωση των επιπέδων της στο αίμα. Η μείωση αυτή δεν σχετίζεται με την ενδογενή αναστολή της από τους TIMPs, αλλά αποδίδεται στην άρση των βλαπτικών παραγόντων.

Αντίθετα στις επεμβάσεις αορτοστεφανιαίας παράκαμψης χωρίς Ε/Κ (OPCAB) η επίδραση του τραύματος, που προκαλείται από τις διακοπτόμενες φάσεις τοπικής Ισχαιμίας λόγω των χειρουργικών χειρισμών κατά την εκτέλεση των περιφερικών

αναστομώσεων, δεν προκαλεί ενεργοποίηση της MMP-9. Κατά τη φάση επαναιμάτωσης που ακολουθεί, η επίδραση του τραύματος Επαναιμάτωσης επίσης δεν προκαλεί ενεργοποίηση της MMP-9. Αντίθετα και στις δύο παραπάνω περιόδους τα επίπεδα της MMP-9 εμφανίζονται μειούμενα, τα δε επίπεδα των TIMP-1 και TIMP-4 εμφανίζονται και αυτά μειούμενα στα αντίστοιχα χρονικά διαστήματα. Η μείωση αυτή αποδίδεται στην αιμοαραίωση, λόγω χορήγησης υγρών σύμφωνα με την αναισθησιολογική πρακτική κατά την περίοδο των χειρουργικών χειρισμών, ως μέσο αιμοδυναμικής σταθεροποίησης.

Ένα άλλο ενδιαφέρον επίσης συμπέρασμα, στο οποίο καταλήγει η παρούσα μελέτη, έχει σχέση με τη χρονική στιγμή που αίρεται το ερέθισμα ισχαιμίας στις δύο ομάδες. Έτσι λοιπόν σε επεμβάσεις αορτοστεφανιαίας παράκαμψης με Ε/Κ (CCABG), η αύξηση των επιπέδων της MMP-9, που παρατηρείται μετά την άρση του αορτικού αποκλεισμού και είναι συνέπεια της επαφής του αίματος με το κύκλωμα της Ε/Κ και της γενικευμένης Ισχαιμίας, σχετίζεται με την αύξηση των επιπέδων του TIMP-1, λόγω παραγωγής του από τον οργανισμό για την αναστολή της παθολογικής αύξησης της MMP-9.

Αντίθετα σε επεμβάσεις αορτοστεφανιαίας παράκαμψης χωρίς Ε/Κ (OPCAB), τα επίπεδα της MMP-9, μετά το τέλος των περιφερικών αναστομώσεων, παρουσιάζονται μειωμένα σε σχέση με την αρχική τιμή, παρόλη την επίδραση της διαλείπουσας τοπικής Ισχαιμίας και δεν σχετίζονται με την τιμή του TIMP-1 ούτε του TIMP-4, παρά μόνο με τα επίπεδα της αρχικής τιμής της MMP-9. Το γεγονός αυτό ερμηνεύει τη μείωση της τιμής των επιπέδων της MMP-9 σαν ανεξάρτητη από την αναστολή της από τους TIMP-1 και TIMP-4.

Συνοψίζοντας καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι η Ε/Κ καθώς και το τραύμα «Ισχαιμίας-Επαναιμάτωσης», με τα οποία σχετίζονται οι εγχειρήσεις CCABG,

προκαλούν την αυξημένη παραγωγή και ενεργοποίηση της MMP-9 για ένα ικανό χρονικό διάστημα κατά τις επεμβάσεις αυτές. Δεν συμβαίνει το ίδιο για την MMP-13. Η άνοδος των ενδογενών αναστολέων TIMP-1 και TIMP-4 δεν μπορούν να αντιρροπήσουν την άνοδο που παρουσιάζεται στα επίπεδα της MMP-9. Παρότι δε η αύξηση αυτή της MMP-9 δείχνει τάσης επαναφοράς στα αρχικά επίπεδα μέχρι το τέλος της επέμβασης, οι βιολογικές συνέπειες ακόμη και της επί περιορισμένου χρονικού διαστήματος αύξησής της είναι μεγάλης σημασίας, καθώς τα ένζυμα αυτά μπορούν οξέως να αναστείλουν τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων και να παίξουν σημαντικό ρόλο στην αγγειοδιαστολή που μεσολαβείται από τη ρηλαξίνη.¹⁵⁰⁻¹⁵² Υπάρχουν επίσης ισχυρές ενδείξεις ότι η αύξηση των επιπέδων της MMP-9 προκαλεί ισχαιμία του μυοκαρδίου.^{134,153}

Για τη συσχέτιση της αυξημένης αυτής έκφρασης της MMP-9 με υψηλή νοσηρότητα, δυσλειτουργίες ζωτικών οργάνων και δυσμενή κλινικά σύνδρομα σε επεμβάσεις CCABG απαιτούνται περαιτέρω έρευνες. Ενδιαφέρον επίσης πεδίο μελλοντικής έρευνας αποτελεί η χρήση εξωγενών αναστολέων της MMP-9, για τον περιορισμό της αύξησης των επιπέδων της κατά τη διάρκεια επεμβάσεων CCABG και η πιθανή μείωση των κλινικών συνεπειών με τις οποίες σχετίζεται.

6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα συμπεράσματα που προκύπτουν από την παρούσα προοπτική τυχαιοποιημένη συγκριτική μελέτη των επιπέδων των MMP-9, MMP-13, TIMP-1 και TIMP-4 στον ορό αίματος ασθενών που υποβλήθηκαν σε εκλεκτική αορτοστεφανιαία παράκαμψη με τη χρήση Ε/Κ (CCABG) και χωρίς την χρήση της (OPCAB), συνοψίζονται στα παρακάτω:

- Οι αρχικές προεγχειρητικές τιμές των επιπέδων των MMP-9 και MMP-13 καθώς και των ενδογενών αναστολέων TIMP-1 και TIMP-4 σε ασθενείς που πρόκειται να υποβληθούν σε αορτοστεφανιαία παράκαμψη δεν σχετίζονται με τον καρδιοχειρουργικό κίνδυνο (εκτιμώμενο με το EuroSCORE), αλλά ούτε και με τη βαρύτητα της στεφανιαίας νόσου (εκτιμώμενης με τον αριθμό των απαιτούμενων μοσχευμάτων).
- Σε επεμβάσεις αορτοστεφανιαίας παράκαμψης με Ε/Κ (CCABG), η επίδραση του τραύματος που προκαλείται από την επαφή του αίματος με το κύκλωμα από την Ε/Κ, αλλά και του τραύματος Ισχαιμίας /Επαναιμάτωσης έχουν σαν αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της MMP-9 και την αύξηση των επιπέδων της στο αίμα. Άμεση συνέπεια αυτού είναι η μείωση των επιπέδων της TIMP-1, λόγω ενδογενούς προσπαθείας του οργανισμού να δεσμεύσει μέρος από την παραγόμενη MMP-9. Οι μεταβολές αυτές γίνονται εμφανείς αμέσως πριν από την αποσύνδεση του ασθενούς από το κύκλωμα της Ε/Κ. Στη συνέχεια, μετά την άρση όλων των βλαπτικών παραγόντων - αποσύνδεση του ασθενούς από το κύκλωμα της Ε/Κ και μέχρι το τέλος της επέμβασης – η ενεργοποίηση της MMP-9 σταματά, με αποτέλεσμα την μείωση των επιπέδων της στο αίμα. Η μείωση αυτή δεν σχετίζεται με την ενδογενή αναστολή της από τους TIMPs - 1 και -4, αλλά αποδίδεται στην άρση των βλαπτικών παραγόντων.

Αντίθετα σε επεμβάσεις αορτοστεφανιαίας παράκαμψης χωρίς Ε/Κ (OPCAB), πέραν του γεγονότος ότι δεν υπάρχει επαφή του αίματος με μη επιθηλιωμένες επιφάνειες, η επίδραση του περιορισμένου τραύματος που προκαλείται από τις διακοπτόμενες φάσεις τοπικής Ισχαιμίας λόγω των χειρουργικών χειρισμών, κατά την εκτέλεση των περιφερικών αναστομώνσεων, δεν προκαλεί ενεργοποίηση της MMP-9. Κατά τη φάση Επαναιμάτωσης που ακολουθεί, η επίδραση του τραύματος Επαναιμάτωσης επίσης δεν προκαλεί ενεργοποίηση της MMP-9. Αντίθετα και στα δύο παραπάνω διαστήματα, τα επίπεδα της MMP-9 εμφανίζονται μειούμενα, τα δε επίπεδα των TIMP-1 και TIMP-4 εμφανίζονται να ακολουθούν την ίδια πορεία.

- Σε επεμβάσεις αορτοστεφανιαίας παράκαμψης με Ε/Κ (CCABG), η αύξηση των επιπέδων της MMP-9, που παρατηρείται μετά την άρση του αορτικού αποκλεισμού και είναι συνέπεια της επαφής του αίματος με το κύκλωμα της Ε/Κ και της γενικευμένης Ισχαιμίας, σχετίζεται με την αύξηση των επιπέδων του TIMP-1, λόγω παραγωγής του από τον οργανισμό για την αναστολή της παθολογικής αύξησης της MMP-9.

Αντίθετα σε επεμβάσεις αορτοστεφανιαίας παράκαμψης χωρίς Ε/Κ (OPCAB), τα επίπεδα της MMP-9, μετά το τέλος των περιφερικών αναστομώνσεων, παρουσιάζονται μειωμένα σε σχέση με την αρχική τιμή, παρόλη την επίδραση της διαλείπουσας τοπικής Ισχαιμίας και δεν σχετίζονται με την τιμή του TIMP-1 ούτε του TIMP-4, παρά μόνο με τα επίπεδα της αρχικής τιμής της MMP-9. Το γεγονός αυτό ερμηνεύει τη μείωση της τιμής των επιπέδων της MMP-9 σαν ανεξάρτητη από την αναστολή της από τους TIMP-1 και TIMP-4.

- Σε επεμβάσεις αορτοστεφανιαίας παράκαμψης με Ε/Κ (CCABG) και χωρίς Ε/Κ (OPCAB), οι μεταβολές των επιπέδων της MMP-13 στον ορό του αίματος στις διάφορες φάσεις των δύο τύπων επεμβάσεων δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικές διαφορές, ούτε παρουσιάζουν συσχετίσεις με τους TIMP-1 και TIMP-4.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η χρήση της εξωσωματικής κυκλοφορίας συνετέλεσε στην καθιέρωση της αορτοστεφανιαίας παράκαμψης στην αντιμετώπιση της στεφανιαίας νόσου καθώς και στην εν γένει πρόοδο της καρδιοχειρουργικής. Η Ε/Κ όμως ενοχοποιείται για μία σειρά δυνητικά επιβλαβών καταστάσεων με τις οποίες είναι συνυφασμένη. Εν πρώτοις λοιπόν, η επαφή όμως του αίματος με τις μη επιθηλιοποιημένες επιφάνειες του κυκλώματος της εξωσωματικής κυκλοφορίας προκαλεί την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος και την εκδήλωση του Συνδρόμου Συστηματικής Φλεγμονώδους Αντίδρασης (Systematic Inflammatory Response Syndrome, SIRS). Επιπροσθέτως κατά τη διάρκεια των καρδιοχειρουργικών επεμβάσεων, που εκτελούνται με την χρήση της Εξωσωματικής Κυκλοφορίας (Ε/Κ), ο παροδικός αορτικός αποκλεισμός προκαλεί τραύμα «Ισχαιμίας-Επανακυκλοφορίας» (Ischemia-Reperfusion Injury), το οποίο μπορεί να εκδηλωθεί κλινικά με οξείες καταστάσεις καρδιακής δυσλειτουργίας, όπως το απόπληκτο ή το χειμάζον μυοκάρδιο. Η κλινική εμφάνιση των επιβλαβών αυτών καταστάσεων ποικίλει όσον αφορά τη βαρύτητα εκδήλωσής τους και περιλαμβάνει ένα ευρύ φάσμα εκδηλώσεων, που κυμαίνεται από μία ήπια οργανική δυσλειτουργία έως και ανεπάρκεια πολλών οργάνων πολλών συστημάτων.

Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMPs) είναι πρωτεολυτικά ένζυμα υπεύθυνα για την αποδόμηση συστατικών της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, τόσο σε φυσιολογικές διαδικασίες, όσο και σε παθολογικές διαδικασίες. Η δράση των MMPs εξαρτάται από τη σχετική συγκέντρωση των ενεργών μορφών και των αντίστοιχων φυσικών αναστολέων τους (TIMPs). Σε έδαφος παθολογικών διεργασιών η ισορροπία διαταράσσεται. Η αναγνωρισμένη πρωτεολυτική τους δράση, από τις αρχικές έρευνες, τις έκαναν γνωστές για τη συσχέτισή τους με χρόνιες καταστάσεις. Από πρόσφατες όμως έρευνες φαίνεται ότι εμπλέκονται και σε οξείες πρωτεολυτικές

διεργασίες που δεν αφορούν την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία. Στα πλαίσια της διερεύνησης των οξέων παθολογικών καταστάσεων με τις οποίες σχετίζονται οι MMPs, έγιναν και οι πρώτες μελέτες που αφορούν στις μεταβολές των επιπέδων των MMPs κατά τη διάρκεια των καρδιοχειρουργικών επεμβάσεων με τη χρήση της E/K.

Η πρόκληση της συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης και του τραύματος «Ισχαιμίας-Επαναιμάτωσης» κατά την E/K έχει βρεθεί ότι σχετίζεται μεταξύ των άλλων και με την ενεργοποίηση των MMPs. Η συσχέτιση της E/K και της ενεργοποίησης των MMPs προήλθε από την παρατήρηση αυξημένης αποδομητικής δραστηριότητας στο διάμεσο χώρο και ειδικότερα στο επίπεδο της βασικής μεμβράνης, κατά την E/K, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή της γεωμετρίας του ενδοθηλίου και τη διαταραχή του ενδοθηλιακού φραγμού, με τελικό αποτέλεσμα το ιστικό οίδημα και την οργανική δεισλειτουργία. Η αναβίωση όμως της στεφανιαίας χειρουργικής χωρίς E/K, την τελευταία δεκαετία, και η εγκαθίδρυσή της, βασίστηκε στο επιχείρημα ότι η απουσία της E/K μειώνει σημαντικά την απελευθέρωση των προφλεγμονωδών εκείνων ουσιών που προκαλούν την πυροδότηση του συνδρόμου SIRS, αλλά και περιορίζει το το τραύμα «Ισχαιμίας-Επαναιμάτωσης», καθώς δεν χαρακτηρίζεται από γενικευμένη ισχαιμία, αλλά από διαλείπουσα, τοπική ισχαιμία.

Στη παρούσα προοπτική τυχαιοποιημένη μελέτη, που πραγματοποιήθηκε στην Α' Κλινική Θώρακος, Καρδιάς και Μεγάλων Αγγείων του ΑΠΘ, συμμετείχαν 40 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε προγραμματισμένη αορτοστεφανιαία παράκαμψη. Οι ασθενείς πληρούσαν τα κριτήρια εισόδου και αποκλεισμού της μελέτης αυτής, που καθορίστηκαν βάσει των υπαρχόντων βιβλιογραφικών δεδομένων. Οι ασθενείς κατά την εισαγωγή τους τυχαιοποιήθηκαν σε δύο ομάδες, με παρόμοια δημογραφικά στοιχεία. Στην Ομάδα Α, στην οποία οι ασθενείς χειρουργήθηκαν

με τη χρήση της εξωσωματικής κυκλοφορίας (CCABG) και στην Ομάδα Β, στην οποία οι ασθενείς χειρουργήθηκαν χωρίς εξωσωματική κυκλοφορία (OPCAB). Από τους ασθενείς και των δύο ομάδων λήφθηκε αίμα από τον καθετήρα της κεντρικής φλεβικής γραμμής για τον προσδιορισμό των επιπέδων των MMP-9, MMP-13, TIMP-1 και TIMP-4 στον ορό του αίματος σε τέσσερις χρονικές στιγμές της επέμβασης. Στην Ομάδα Α ελήφθησαν τέσσερα δείγματα κατά την τομή του δέρματος (T1), κατά την άρση του αορτικού αποκλεισμού (T2), κατά την αναστροφή της ηπαρίνης με πρωταμίνη (T3) και μετά τη συρραφή του δέρματος (T4). Στην Ομάδα Β τα δείγματα ελήφθησαν κατά την τομή του δέρματος (T1), κατά το τέλος των περιφερικών αναστομώσεων/χειρουργικών χειρισμών (T2), κατά την αναστροφή της ηπαρίνης με πρωταμίνη (T3) και μετά τη συρραφή του δέρματος (T4).

Η μελέτη των προεγχειρητικών τιμών των επιπέδων των MMP-9, MMP-13, TIMP-1 και TIMP-4 σε σχέση με τον καρδιοχειρουργικό κίνδυνο (εκτιμώμενο με το EuroSCORE) και τη βαρύτητα της στεφανιαίας νόσου (εκτιμωμένης με τον αριθμό των απαιτούμενων μοσχευμάτων) έδειξε ότι δεν υπάρχει καμιά συσχέτιση μεταξύ τους.

Από τη μελέτη των επιπέδων της MMP-9 και των TIMPs στις διάφορες χρονικές φάσεις των επεμβάσεων των δύο ομάδων, συμπεραίνεται ότι στις επεμβάσεις αορτοστεφανιαίας παράκαμψης με E/K (CCABG) η επίδραση του τραύματος που προκαλείται από την επαφή του αίματος με το κύκλωμα της E/K και η επίδραση του τραύματος Ισχαιμίας /Επαναιμάτωσης έχουν σαν αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων της MMP-9 στο αίμα με συνέπεια τη μείωση των επιπέδων του TIMP-1, λόγω ενδογενούς προσπάθειας του οργανισμού να δεσμεύσει μέρος από την παραγόμενη MMP-9. Οι μεταβολές αυτές γίνονται εμφανείς αμέσως πριν την αποσύνδεση του ασθενούς από το κύκλωμα της E/K (T1-T3). Μετά την αποσύνδεση του ασθενούς από το κύκλωμα της E/K και μέχρι το τέλος της

επέμβασης (T3-T4), η παραγωγή της MMP-9 σταματά, με αποτέλεσμα την μείωση των επιπέδων της στο αίμα η οποία δεν σχετίζεται με την ενδογενή αναστολή της από τους TIMP-1 και TIMP-4.

Αντίθετα στις επεμβάσεις αορτοστεφανιαίας παράκαμψης χωρίς E/K (OPCAB), η επίδραση του τραύματος που προκαλείται από τις διακοπτόμενες φάσεις τοπικής ισχαιμίας λόγω των χειρουργικών χειρισμών, κατά την εκτέλεση των περιφερικών αναστομώνσεων (T1-T2), δεν προκαλεί ενεργοποίηση της MMP-9. Κατά τη φάση επαναιμάτωσης που ακολουθεί (T2-T3), η επίδραση του τραύματος Επαναιμάτωσης επίσης δεν προκαλεί ενεργοποίηση της MMP-9.

Από τη μελέτη των επιπέδων της MMP-13 και των TIMP-1, TIMP-4 των δύο ομάδων, δεν παρουσιάζεται καμιά στατιστικά σημαντική μεταβολή των τιμών της MMP-13 στις διάφορες φάσεις των δύο τύπων επεμβάσεων, ούτε και συσχέτιση των τιμών της με τους TIMP-1 και TIMP-4.

Συμπερασματικά οι εγχειρήσεις CCABG προκαλούν αυξημένη παραγωγή της MMP-9 για ένα ικανό χρονικό διάστημα. Για τη συσχέτιση της αυξημένης αυτής έκφρασης της MMP-9 με υψηλή νοσηρότητα, δυσλειτουργίες ζωτικών οργάνων και δυσμενή κλινικά σύνδρομα σε επεμβάσεις CCABG απαιτούνται περαιτέρω έρευνες. Ενδιαφέρον επίσης πεδίο μελλοντικής έρευνας αποτελεί η χρήση εξωγενών αναστολέων της MMP-9, για τον περιορισμό της αύξησης των επιπέδων της κατά τη διάρκεια επεμβάσεων CCABG και η πιθανή μείωση των κλινικών συνεπειών με τις οποίες σχετίζεται.

SUMMARY

The use of the Cardiopulmonary Bypass (CPB) contributed to the establishment of coronary bypass surgery as treatment of choice in ischemic heart disease and also to the significant progress in all fields of cardiac surgery. However CPB may be responsible for a series of potentially dangerous consequences with which it is associated. First, the contact of blood with the non-epithelial surface of the CPB tubing results in the activation of the immune system and the development of the Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS). Additionally, during cardiac surgery operations performed under CPB, the temporary aortic cross clamping causes the Ischemia-Reperfusion Injury, which can manifest clinically with acute cardiac dysfunction, due to stunned or hibernating myocardium. These adverse consequences of CPB may be of variable clinical severity and may include a wide variety of presentations, ranging from mild organ dysfunction to multisystem organ failure.

Matrix metalloproteinases (MMPs) are proteolytic enzymes that are responsible for the degradation of the extracellular matrix, both during normal physiological processes but also in pathologic conditions. The activity of MMPs depends on the synthesis of their active enzymic forms and their endogenous regulators - Tissue Inhibitors of Metalloproteinases (TIMPs). The equilibrium between active MMPs and their inhibitors determines the net proteolytic activity. Since early studies, the known proteolytic action of MMPs has implicated them with chronic conditions. However recent studies show that MMPs are also involved in acute proteolytic processes that do not just target the extracellular matrix. In the context of investigating the acute pathologies associated with the MMPs, the results of the first studies, relating to changes in the levels of MMPs during cardiac surgery with the use of CPB, were reported.

The development of SIRS and Ischemia-Reperfusion injury during CPB has been found to be associated with the activation of MMPs. The association of CPB and increased activity of MMPs was derived from the discovery of increased proteolytic activity at the extracellular matrix, especially the basement membrane during CPB. This increased degradative action resulted in alteration of endothelial geometrical relationships, compromising the endothelial barrier, ultimately leading to tissue edema and organ dysfunction.

The re-emergence and adoption of coronary surgery without CPB is based on the argument that, eliminating CPB significantly, decreases the secretion of proinflammatory substances that stimulate the SIRS syndrome, and reduces the duration of ischemia which is responsible for Ischemia-Reperfusion injury.

The current prospective, randomized study was performed at the Cardiothoracic Surgery Department of Aristotle University of Thessaloniki and included 40 patients who underwent elective coronary bypass. The inclusion and exclusion criteria of the study were determined based on a thorough literature review. During their entrance in the study, the patients were randomized into two groups, and post-randomization analysis of the two groups showed as expected that they have similar demographic characteristics. Group A patients (CCABG) underwent coronary bypass under CPB, while Group B patients (OPCAB) underwent off-pump coronary bypass without CPB. Blood was drawn from the central venous catheter of all patients, in order to measure plasma levels of MMP-9, MMP-13, TIMP-1 and TIMP-4 at four specific timepoints during the surgery. The 4 different time-points included: immediately before initial skin incision (T1), after aortic clamp release for Group A or after the completion of peripheral anastomoses/surgical manipulations for Group B (T2), after heparin-reversal with protamine sulfate (T3), and after completion of skin suturing (T4).

There was no association between the pre-operative levels of MMP-9/MMP-13/TIMP-1/TIMP-4 (T1) and the surgical risk (as estimated by EuroSCORE) or the severity of the coronary artery disease (as estimated by the number of grafts needed).

Analysis of the levels of MMP-9 and TIMPs between the two groups at various timepoints showed that during CPB (CCABG) in coronary bypass surgery – which is associated with trauma due to blood contact with the CPB-circuit tubing and also Ischemia-Reperfusion injury after aortic clamp release – there is an increase of the plasma levels of MMP-9, with consequent decrease of the plasma levels of TIMP-1. These changes become evident immediately before the disconnection of the patient from the CPB circuit (T1-T3). After the disconnection of the patient from the CPB circuit and until the end of the operation (T3-T4), the MMP-9 activation ceases and its plasma level drops, but this is not associated with its endogenous suppression by TIMPs.

On the other hand, in coronary bypass surgery without CPB (OPCAB) – which is associated with intermittent periods of local ischemia secondary to surgical manipulations for the performing of the peripheral anastomoses – there is no activation of MMP-9 (T1-T2). During the subsequent reperfusion phase (T2-T3), there is also no activation of MMP-9.

Analysis of the levels of MMP-13 shows that they do not exhibit any statistically significant change between the two groups at any of the timepoints, and there are no associated changes in TIMPs levels.

In conclusion, CCABG operations involve the production and activation of MMP-9 for a significant duration of time. The association of increased MMP-9 expression with high morbidity, organ dysfunction and clinical syndromes in

CCABG operations necessitates further studies. Another area of future research pertains to the administration of exogenous inhibitors of MMP-9, in order to limit the increase in MMP-9 levels and potentially reduce the associated clinical consequences.

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΕΣ ΣΥΝΤΟΜΕΥΣΕΙΣ

CCABG =	Conventional Coronary Artery Bypass Grafting (Συμβατική Αορτοστεφανιαία Παράκαμψη)
C =	Compliment (Συμπλήρωμα)
C3a =	C3 Activator Fragment (Παράγοντας C3 του Συμπληρώματος)
C5a =	C5 Activator Fragment (Παράγοντας C5 του Συμπληρώματος)
CK-MB =	Creatine Kinase – Myocardial Bound (Κρεατινική Κινάση – Μυοκαρδιακό Ισοένζυμο)
D-dimers =	D-dimers (D -διμερές – Προϊόντα αποδόμησης ινώδους)
ELISA =	Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Enzyme Linked Immunosorbent assay)
Euroscore =	European System for Cardiac Operative Risk Evaluation Score (Ευρωπαϊκό Σύστημα Αξιολόγησης Καρδιοχειρουργικού κινδύνου)
FAS =	Apoptosis Stimulating Fragment (Αποπτωτικός Σύνδεσμος/Προσδέτης FAS)
IL-6 =	Interleukin-6 (Ιντερλευκίνη-6)
IL-8 =	Interleukin-8 (Ιντερλευκίνη-8)
IL-10 =	Interleukin-10 (Ιντερλευκίνη-10)
LIMA =	Left Internal Mammary Artery (Αριστερή έσω μαστική αρτηρία)
MECC =	Minimal ExtraCorporeal Circulation (Ελάχιστα Επεμβατική Εξωσωματική Κυκλοφορία)
MMP =	Matrix Metalloproteases (Μεταλοπρωτεϊνάσες)
MRI =	Magnetic Resonance Imaging (Μαγνητική Τομογραφία)
MT-MMP =	Membrane Type MMR (Μεμβρανικού Τύπου MMP)
MARKs =	Microtubule Affinity Regulating Kinases
NF-κB =	Nuclear Factor Kappa Beta (Πυρηνικός Παράγοντας κB)
OPCAB =	Off Pump Coronary Artery Bypass (Αορτοστεφανιαία παράκαμψη χωρίς Εξωσωματική κυκλοφορία)
RCTs =	Randomized Controlled Trials (Τυχαιοποιημένες Συγκριτικές Μελέτες)
SIRS =	Systemic Inflammatory Response Syndrom

- (Σύνδρομο Συστηματικής Φλεγμονώδους Αντίδρασης)
- TIMP** = Tissue inhibitors of Metalloproteases
(Ενδογενείς αναστολείς των Μεταλλοπρωτεϊνάσων)
- TFNa** = Tumor Necrosis Factor-α (Παράγοντας Νέκρωσης Όγκων-α)
- Tr-I** = Troponin I (Τροπονίνη I)
- Tr-T** = Troponin T (Τροπονίνη T)

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

Athens, 02/06/2013

ANNOTATION

Dear Sirs,

My name is Georgia Prokopaki and I am a Biostatistician. The current study was submitted to me in order to check the validity of the Statistical analysis and the methods which were performed, in order to justify the main causes/aims of the study. The author was more than helpful by providing me the raw data and allowing me to perform all the tests. The total sample consisted of 40 patients, divided into two different groups and therefore non-parametric methods were used for the total analysis.

In my opinion as a Biostatistician, the author has performed all the necessary tests and controls on the particular data set, in order to add-up to the final conclusions, as mentioned in the study.

With respect,

Georgia Prokopaki

Biostatistician MSc

*Contact
details:*

tel: +30 6945 753347

e-mail: gprokopaki@hotmail.com,
gprokopak@med.uoa.gr

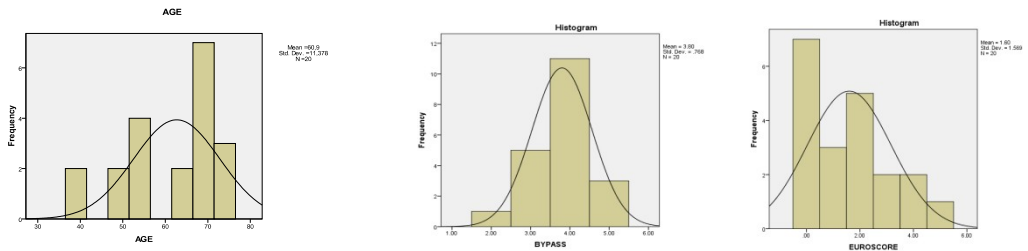
Πίνακας Π1.1: Αποτελέσματα ελέγχου κανονικότητας Shapiro-Wilk για «Ηλικία», «No Μοσχευμάτων» και «Euroscore» στην Ομάδα Α

ΜΕΤΑΒΛΗΤΗ	z-test	p-value	Αποτέλεσμα
ΗΛΙΚΙΑ	0.834	0.202	ΔΕΝ ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
BY PASS	0.866	0.613	ΔΕΝ ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
EUROSCORE	0.877	0.015	ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ

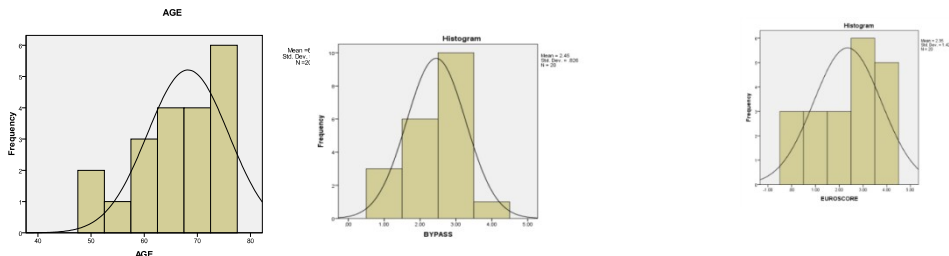
Πίνακας Π1.2: Αποτελέσματα ελέγχου κανονικότητας Shapiro-Wilk για «Ηλικία», «No Μοσχευμάτων» και «Euroscore» στην Ομάδα Β

ΜΕΤΑΒΛΗΤΗ	z-test	p-value	Αποτέλεσμα
ΗΛΙΚΙΑ	2.160	0.015	ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
BY PASS	1.009	0.156	ΔΕΝ ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
EUROSCORE	0.878	0.016	ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ

Σχήμα Π1.1: Γραφικός έλεγχος κανονικότητας μεταβλητών «Ηλικία», «No Μοσχευμάτων» και «Euroscore» στην Ομάδα Α



Σχήμα Π1.2: Γραφικός έλεγχος κανονικότητας μεταβλητών «Ηλικία», «No Μοσχευμάτων» και «Euroscore» στην Ομάδα Β



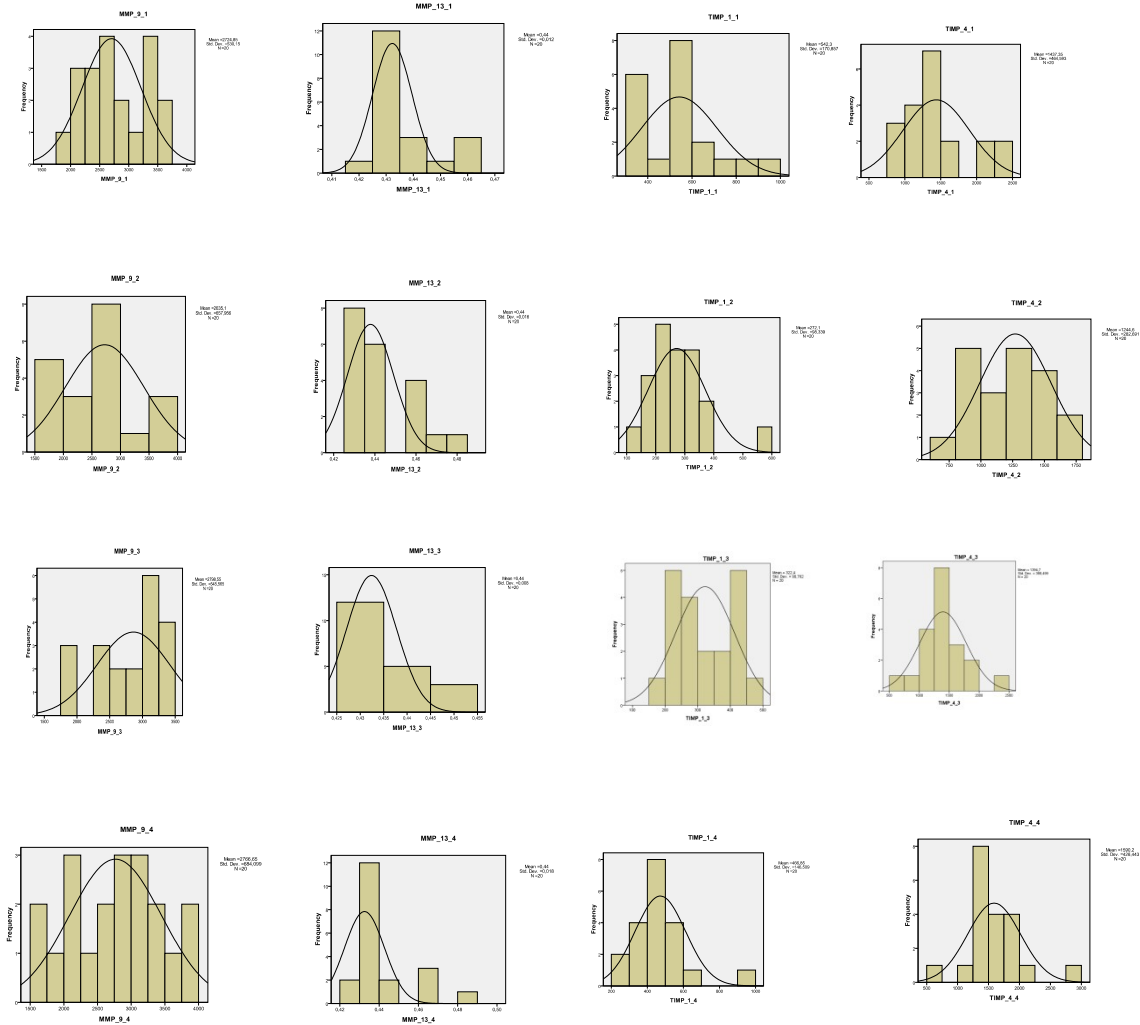
Πίνακας Π2.1: Αποτελέσματα ελέγχου κανονικότητας Shapiro-Wilk για τις ποσοτικές μεταβλητές της Ομάδας Α, που απεικονίζουν τις μετρήσεις στις διάφορες χρονικές στιγμές

ΜΕΤΑΒΛΗΤΗ	z-test	p-value	Αποτέλεσμα
MM-9_1	0.693	0.244	ΔΕΝ ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
MM-13_1	1.977	0.024	ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
TIMP-1_1	0.723	0.234	ΔΕΝ ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
TIMP-4_1	1.396	0.081	ΔΕΝ ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
MM-9_2	-0.270	0.606	ΔΕΝ ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
MM-13_2	2.534	0.005	ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
TIMP-1_2	1.555	0.060	ΔΕΝ ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
TIMP-4_2	-0.782	0.782	ΔΕΝ ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
MM-9_3	0.623	0.266	ΔΕΝ ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
MM-13_3	2.039	0.020	ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
TIMP-1_3	0.640	0.261	ΔΕΝ ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
TIMP-4_3	0.861	0.194	ΔΕΝ ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
MM-9_4	-0.330	0.629	ΔΕΝ ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
MM-13_4	3.005	0.001	ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
TIMP-1_4	2.325	0.010	ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
TIMP-4_4	0.816	0.207	ΔΕΝ ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ

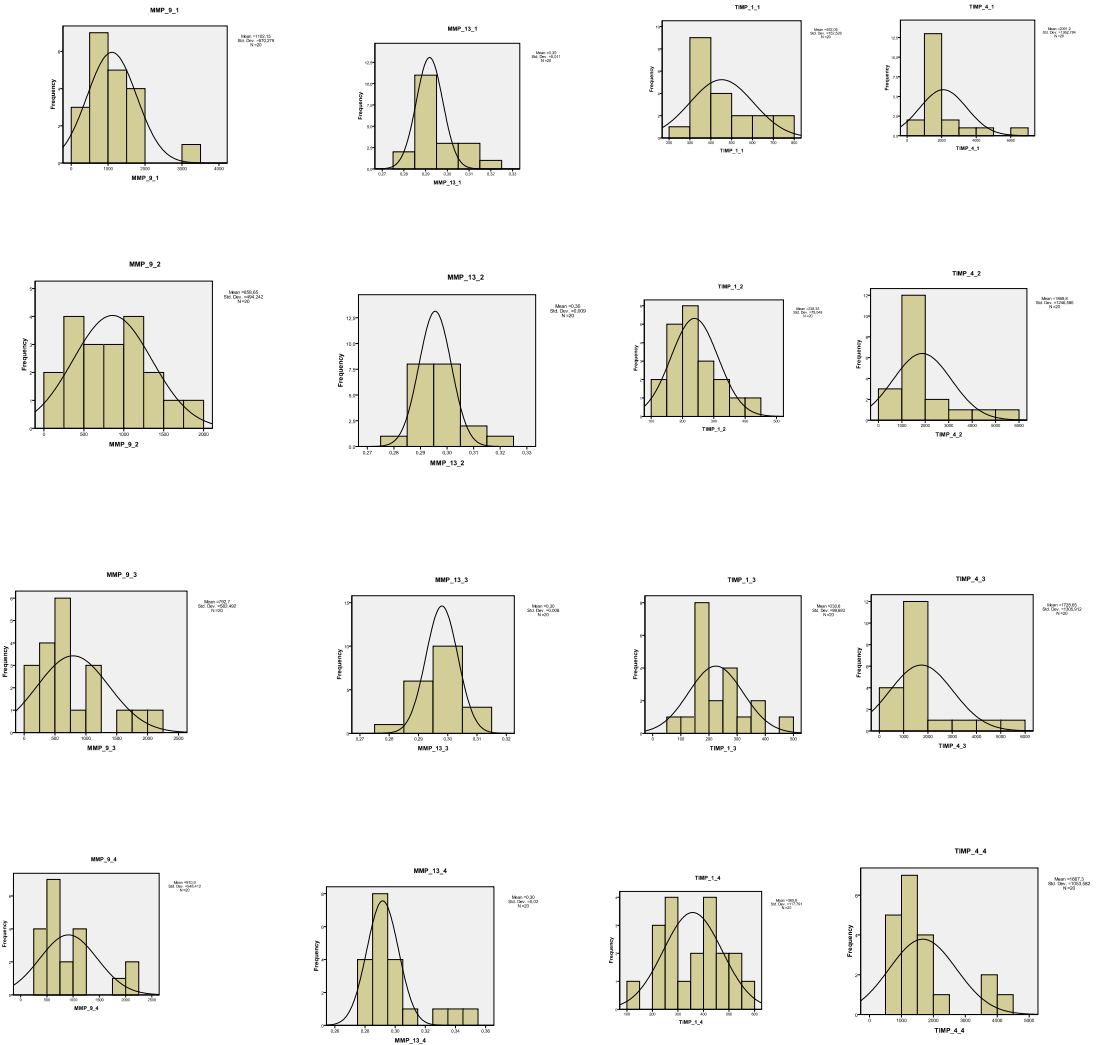
Πίνακας Π2.2: Αποτελέσματα ελέγχου κανονικότητας Shapiro-Wilk για τις ποσοτικές μεταβλητές της Ομάδας Β, που απεικονίζουν τις μετρήσεις στις διάφορες χρονικές στιγμές

ΜΕΤΑΒΛΗΤΗ	z-test	p-value	Αποτέλεσμα
MM-9_1	1.987	0.023	ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
MM-13_1	0.703	0.240	ΔΕΝ ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
TIMP-1_1	1.312	0.094	ΔΕΝ ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
TIMP-4_1	3.750	<0.001	ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
MM-9_2	-0.115	0.545	ΔΕΝ ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
MM-13_2	-0.533	0.702	ΔΕΝ ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
TIMP-1_2	0.799	0.212	ΔΕΝ ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
TIMP-4_2	3.305	<0.001	ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
MM-9_3	1.589	0.056	ΔΙΑΦΕΡΕΙ (ΟΡΙΑΚΑ) ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
MM-13_3	-0.441	0.670	ΔΕΝ ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
TIMP-1_3	0.781	0.212	ΔΕΝ ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
TIMP-4_3	3.695	<0.001	ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
MM-9_4	2.651	0.004	ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
MM-13_4	3.013	0.001	ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
TIMP-1_4	-0.130	0.551	ΔΕΝ ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ
TIMP-4_4	3.216	<0.001	ΔΙΑΦΕΡΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΚΑΤΑΝΟΜΗ

Σχήμα Π2.1: Γραφικός έλεγχος κανονικότητας για τις ποσοτικές μεταβλητές της Ομάδας Α



Σχήμα Π2.2: Γραφικός έλεγχος κανονικότητας για τις ποσοτικές μεταβλητές της Ομάδας B



Πίνακας Π3. Αποτελέσματα ελέγχου Spearman για την ύπαρξη στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων μεταξύ των διαφόρων χρονικών στιγμών και μεταβλητών για την Ομάδα Α.

		MMP_9_T1	MMP_13_T1	TIMP_1_T1	TIMP_4_T1	MMP_9_T2	MMP_13_T2	TIMP_1_T2	TIMP_4_T2	MMP_9_T3	MMP_13_T3	TIMP_1_T3	TIMP_4_T3	MMP_9_T4	MMP_13_T4	TIMP_1_T4	TIMP_4_T4
MMP_9_T1	Correlation Coefficient	1,000	-,207	-,317	,050	,257	-,276	,241	,069	,631**	-,392	-,403	,010	,293	-,115	-,033	,319
	Sig. (2-tailed)		,381	,173	,833	,273	,238	,307	,772	,003	,087	,078	,967	,211	,629	,890	,171
MMP_13_T1	Correlation Coefficient	-,207	1,000	-,289	-,159	-,073	,171	-,010	,019	,107	-,153	-,152	-,052	-,103	,012	,060	-,177
	Sig. (2-tailed)	,381		,217	,502	,759	,472	,966	,936	,654	,520	,523	,828	,665	,961	,803	,455
TIMP_1_T1	Correlation Coefficient	-,317	-,289	1,000	,251	,126	-,150	,119	,033	-,464*	,164	,665**	,249	,080	,215	,383	,113
	Sig. (2-tailed)	,173	,217		,286	,598	,527	,618	,890	,039	,490	,001	,290	,738	,362	,096	,636
TIMP_4_T1	Correlation Coefficient	,050	-,159	,251	1,000	,141	-,028	,232	,737**	-,126	-,030	,257	,639**	,180	,349	,420	,779**
	Sig. (2-tailed)	,833	,502	,286		,552	,905	,326	,000	,596	,900	,274	,002	,446	,132	,065	,000
MMP_9_T2	Correlation Coefficient	,257	-,073	,126	,141	1,000	-,065	,487*	,411	,399	,159	,448*	,141	,798**	,201	,478*	,324
	Sig. (2-tailed)	,273	,759	,598	,552		,786	,030	,072	,082	,503	,047	,554	,000	,397	,033	,163
MMP_13_T2	Correlation Coefficient	-,276	,171	-,150	-,028	-,065	1,000	-,357	,061	,058	,445*	-,099	,132	,247	,373	-,101	,018
	Sig. (2-tailed)	,238	,472	,527	,905	,786		,122	,797	,808	,049	,678	,579	,294	,105	,671	,939
TIMP_1_T2	Correlation Coefficient	,241	-,010	,119	,232	,487*	-,357	1,000	,254	,416	-,123	,442	,107	,209	,181	,315	,454*
	Sig. (2-tailed)	,307	,966	,618	,326	,030	,122		,279	,068	,606	,051	,654	,376	,444	,176	,044
TIMP_4_T2	Correlation Coefficient	,069	,019	,033	,737**	,411	,061	,254	1,000	,198	,037	,207	,685**	,311	,042	,421	,779**
	Sig. (2-tailed)	,772	,936	,890	,000	,072	,797	,279		,403	,876	,381	,001	,183	,860	,065	,000

MMP_9_T3	Correlation Coefficient	,631**	,107	-,464*	-,126	,399	,058	,416	,198	1,000	-,113	-,112	-,042	,429	-,103	,111	,317
	Sig. (2-tailed)	,003	,654	,039	,596	,082	,808	,068	,403		,634	,637	,860	,059	,666	,642	,173
MMP_13_T3	Correlation Coefficient	-,392	-,153	,164	-,030	,159	,445*	-,123	,037	-,113	1,000	,201	-,122	,082	,110	,065	,027
	Sig. (2-tailed)	,087	,520	,490	,900	,503	,049	,606	,876	,634		,397	,608	,732	,645	,785	,911
TIMP_1_T3	Correlation Coefficient	-,403	-,152	,665**	,257	,448*	-,099	,442	,207	-,112	,201	1,000	,174	,354	,304	,655**	,178
	Sig. (2-tailed)	,078	,523	,001	,274	,047	,678	,051	,381	,637	,397		,464	,126	,192	,002	,452
TIMP_4_T3	Correlation Coefficient	,010	-,052	,249	,639**	,141	,132	,107	,685**	-,042	-,122	,174	1,000	,162	,266	,189	,563**
	Sig. (2-tailed)	,967	,828	,290	,002	,554	,579	,654	,001	,860	,608	,464		,494	,256	,425	,010
MMP_9_T4	Correlation Coefficient	,293	-,103	,080	,180	,798**	,247	,209	,311	,429	,082	,354	,162	1,000	,461*	,426	,296
	Sig. (2-tailed)	,211	,665	,738	,446	,000	,294	,376	,183	,059	,732	,126	,494		,041	,061	,205
MMP_13_T4	Correlation Coefficient	-,115	,012	,215	,349	,201	,373	,181	,042	-,103	,110	,304	,266	,461*	1,000	,239	,140
	Sig. (2-tailed)	,629	,961	,362	,132	,397	,105	,444	,860	,666	,645	,192	,256	,041		,310	,555
TIMP_1_T4	Correlation Coefficient	-,033	,060	,383	,420	,478*	-,101	,315	,421	,111	,065	,655**	,189	,426	,239	1,000	,481*
	Sig. (2-tailed)	,890	,803	,096	,065	,033	,671	,176	,065	,642	,785	,002	,425	,061	,310		,032
TIMP_4_T4	Correlation Coefficient	,319	-,177	,113	,779**	,324	,018	,454*	,779**	,317	,027	,178	,563**	,296	,140	,481*	1,000
	Sig. (2-tailed)	,171	,455	,636	,000	,163	,939	,044	,000	,173	,911	,452	,010	,205	,555	,032	

Πίνακας Π4. Αποτελέσματα ελέγχου Spearman για την ύπαρξη στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων μεταξύ των διαφόρων χρονικών στιγμών και μεταβλητών για την Ομάδα Β.

		MMP_9_T1	MMP_13_T1	TIMP_1_T1	TIMP_4_T1	MMP_9_T2	MMP_13_T2	TIMP_1_T2	TIMP_4_T2	MMP_9_T3	MMP_13_T3	TIMP_1_T3	TIMP_4_T3	MMP_9_T4	MMP_13_T4	TIMP_1_T4	TIMP_4_T4
MMP_9_T1	Correlation Coefficient	1,000	,220	,197	,030	,660**	,121	-,192	,002	,641**	,373	,436	,041	,371	,247	,093	-,138
	Sig. (2-tailed)		,352	,405	,900	,002	,612	,416	,995	,002	,106	,054	,865	,107	,294	,696	,561
MMP_13_T1	Correlation Coefficient	,220	1,000	,043	,112	,044	,409	,049	,032	-,058	-,144	-,031	,096	-,374	,302	,008	,060
	Sig. (2-tailed)	,352		,857	,637	,855	,073	,838	,893	,809	,546	,895	,688	,104	,195	,972	,801
TIMP_1_T1	Correlation Coefficient	,197	,043	1,000	,397	,140	-,080	,301	,323	,084	-,398	,551*	,344	-,027	,308	,630**	,435
	Sig. (2-tailed)	,405	,857		,083	,556	,736	,198	,164	,724	,082	,012	,137	,910	,187	,003	,056
TIMP_4_T1	Correlation Coefficient	,030	,112	,397	1,000	,182	,004	,429	,952**	,090	-,073	,225	,845**	-,059	,314	,330	,895**
	Sig. (2-tailed)	,900	,637	,083		,443	,987	,059	,000	,705	,761	,340	,000	,806	,178	,156	,000
MMP_9_T2	Correlation Coefficient	,660**	,044	,140	,182	1,000	-,134	,029	,290	,755**	-,073	,263	,265	,405	,045	,235	,144
	Sig. (2-tailed)	,002	,855	,556	,443		,574	,905	,214	,000	,761	,264	,259	,077	,849	,319	,544
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
MMP_13_T2	Correlation Coefficient	,121	,409	-,080	,004	-,134	1,000	,184	-,060	,086	,326	,085	-,020	-,011	-,106	-,149	,028
	Sig. (2-tailed)	,612	,073	,736	,987	,574		,437	,800	,718	,161	,721	,933	,962	,658	,530	,906
TIMP_1_T2	Correlation Coefficient	-,192	,049	,301	,429	,029	,184	1,000	,499*	,047	-,108	,499*	,417	-,253	-,206	,418	,495*
	Sig. (2-tailed)	,416	,838	,198	,059	,905	,437		,025	,845	,651	,025	,068	,283	,384	,066	,027
TIMP_4_T2	Correlation Coefficient	,002	,032	,323	,952**	,290	-,060	,499*	1,000	,153	-,092	,239	,923**	-,119	,194	,324	,934**
	Sig. (2-tailed)	,995	,893	,164	,000	,214	,800	,025		,519	,701	,310	,000	,618	,412	,164	,000

	tailed)																
MMP_9_T3	Correlation Coefficient	,641**	-,058	,084	,090	,755**	,086	,047	,153	1,000	,253	,461*	,214	,429	,088	,156	,071
	Sig. (2-tailed)	,002	,809	,724	,705	,000	,718	,845	,519		,281	,041	,366	,059	,711	,512	,767
MMP_13_T3	Correlation Coefficient	,373	-,144	-,398	-,073	-,073	,326	-,108	-,092	,253	1,000	,164	-,096	,275	,075	-,458*	-,209
	Sig. (2-tailed)	,106	,546	,082	,761	,761	,161	,651	,701	,281		,489	,688	,240	,754	,042	,376
TIMP_1_T3	Correlation Coefficient	,436	-,031	,551*	,225	,263	,085	,499*	,239	,461*	,164	1,000	,253	,079	-,026	,638**	,193
	Sig. (2-tailed)	,054	,895	,012	,340	,264	,721	,025	,310	,041	,489		,282	,741	,913	,002	,416
TIMP_4_T3	Correlation Coefficient	,041	,096	,344	,845**	,265	-,020	,417	,923**	,214	-,096	,253	1,000	-,260	,201	,232	,925**
	Sig. (2-tailed)	,865	,688	,137	,000	,259	,933	,068	,000	,366	,688	,282		,268	,395	,326	,000
MMP_9_T4	Correlation Coefficient	,371	-,374	-,027	-,059	,405	-,011	-,253	-,119	,429	,275	,079	-,260	1,000	,142	,071	-,266
	Sig. (2-tailed)	,107	,104	,910	,806	,077	,962	,283	,618	,059	,240	,741	,268		,551	,765	,257
MMP_13_T4	Correlation Coefficient	,247	,302	,308	,314	,045	-,106	-,206	,194	,088	,075	-,026	,201	,142	1,000	-,074	,234
	Sig. (2-tailed)	,294	,195	,187	,178	,849	,658	,384	,412	,711	,754	,913	,395	,551		,756	,320
TIMP_1_T4	Correlation Coefficient	,093	,008	,630**	,330	,235	-,149	,418	,324	,156	-,458*	,638**	,232	,071	-,074	1,000	,287
	Sig. (2-tailed)	,696	,972	,003	,156	,319	,530	,066	,164	,512	,042	,002	,326	,765	,756		,220
TIMP_4_T4	Correlation Coefficient	-,138	,060	,435	,895**	,144	,028	,495*	,934**	,071	-,209	,193	,925**	-,266	,234	,287	1,000
	Sig. (2-tailed)	,561	,801	,056	,000	,544	,906	,027	,000	,767	,376	,416	,000	,257	,320	,220	

Πίνακας Π5.1: Αποτελέσματα ελέγχου Wilcoxon για τον λόγο MMP-9/TIMP-1 κατά τις διάφορες χρονικές στιγμές – Ομάδα Α

	T1 vs T2	T1 vs T3	T1 vs T4	T2 vs T3	T2 vs T4	T3 vs T4
Z	-3,397 ^b	-3,920 ^b	-1,232 ^b	-1,045 ^c	-3,771 ^c	-3,211 ^c
Asymp. Sig. (2-tailed)	,001	,000	,218	,296	,000	,001

Πίνακας Π5.2: Αποτελέσματα ελέγχου Wilcoxon για τον λόγο MMP-9/TIMP-4 κατά τις διάφορες χρονικές στιγμές – Ομάδα Α

	T1 vs T2	T1 vs T3	T1 vs T4	T2 vs T3	T2 vs T4	T3 vs T4
Z	-1,195 ^b	-,821 ^b	-1,419 ^c	-,187 ^c	-2,763 ^c	-1,829 ^c
Asymp. Sig. (2-tailed)	,232	,411	,156	,852	,006	,067

Πίνακας Π5.3: Αποτελέσματα ελέγχου Wilcoxon για τον λόγο MMP-13/TIMP-1 κατά τις διάφορες χρονικές στιγμές – Ομάδα Α

	T1 vs T2	T1 vs T3	T1 vs T4	T2 vs T3	T2 vs T4	T3 vs T4
Z	-3,808 ^b	-3,920 ^b	-1,232 ^b	-2,352 ^c	-3,883 ^c	-3,285 ^c
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000	,000	,218	,019	,000	,001

Πίνακας Π5.4: Αποτελέσματα ελέγχου Wilcoxon για τον λόγο MMP-13/TIMP-4 κατά τις διάφορες χρονικές στιγμές – Ομάδα Α

	T1 vs T2	T1 vs T3	T1 vs T4	T2 vs T3	T2 vs T4	T3 vs T4
Z	-2,165 ^b	-,037 ^b	-1,717 ^c	-2,315 ^c	-3,397 ^c	-2,688 ^c
Asymp. Sig. (2-tailed)	,030	,970	,086	,021	,001	,007

Πίνακας Π6.1: Αποτελέσματα ελέγχου Wilcoxon για τον λόγο MMP-9/TIMP-1 κατά τις διάφορες χρονικές στιγμές – Ομάδα Β

	T1 vs T2	T1 vs T3	T1 vs T4	T2 vs T3	T2 vs T4	T3 vs T4
Z	-2,613 ^b	-2,091 ^b	-,261 ^c	-1,083 ^c	-1,755 ^c	-1,792 ^c
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009	,037	,794	,279	,079	,073

Πίνακας Π6.2: Αποτελέσματα ελέγχου Wilcoxon για τον λόγο MMP-9/TIMP-4 κατά τις διάφορες χρονικές στιγμές – Ομάδα Β

	T1 vs T2	T1 vs T3	T1 vs T4	T2 vs T3	T2 vs T4	T3 vs T4
Z	-,709 ^b	-,597 ^b	-,411 ^c	-,187 ^c	-1,643 ^c	-1,419 ^c
Asymp. Sig. (2-tailed)	,478	,550	,681	,852	,100	,156

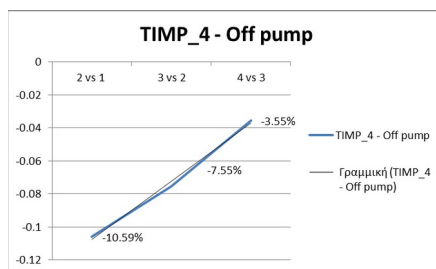
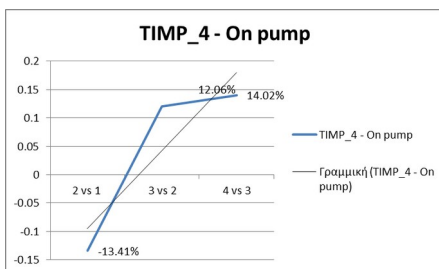
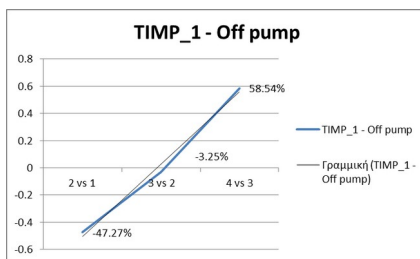
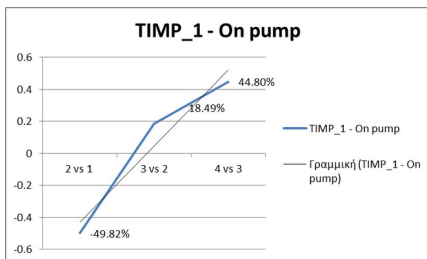
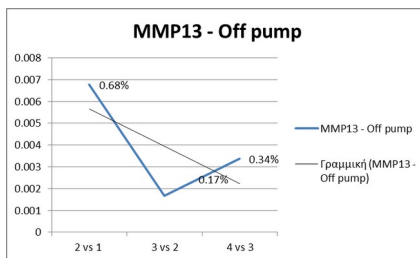
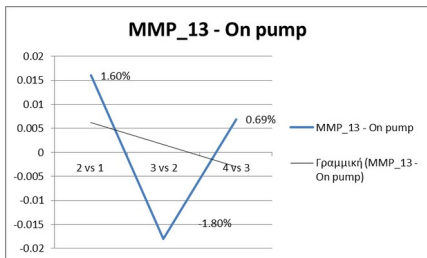
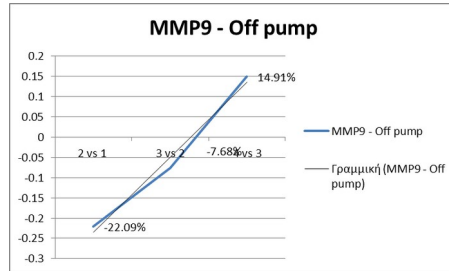
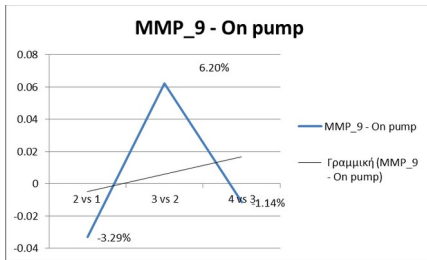
Πίνακας Π6.3: Αποτελέσματα ελέγχου Wilcoxon για τον λόγο MMP-13/TIMP-1 κατά τις διάφορες χρονικές στιγμές – Ομάδα Β

	T1 vs T2	T1 vs T3	T1 vs T4	T2 vs T3	T2 vs T4	T3 vs T4
Z	-3,920 ^b	-3,920 ^b	-2,501 ^b	-1,083 ^b	-3,173 ^c	-3,547 ^c
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000	,000	,012	,279	,002	,000

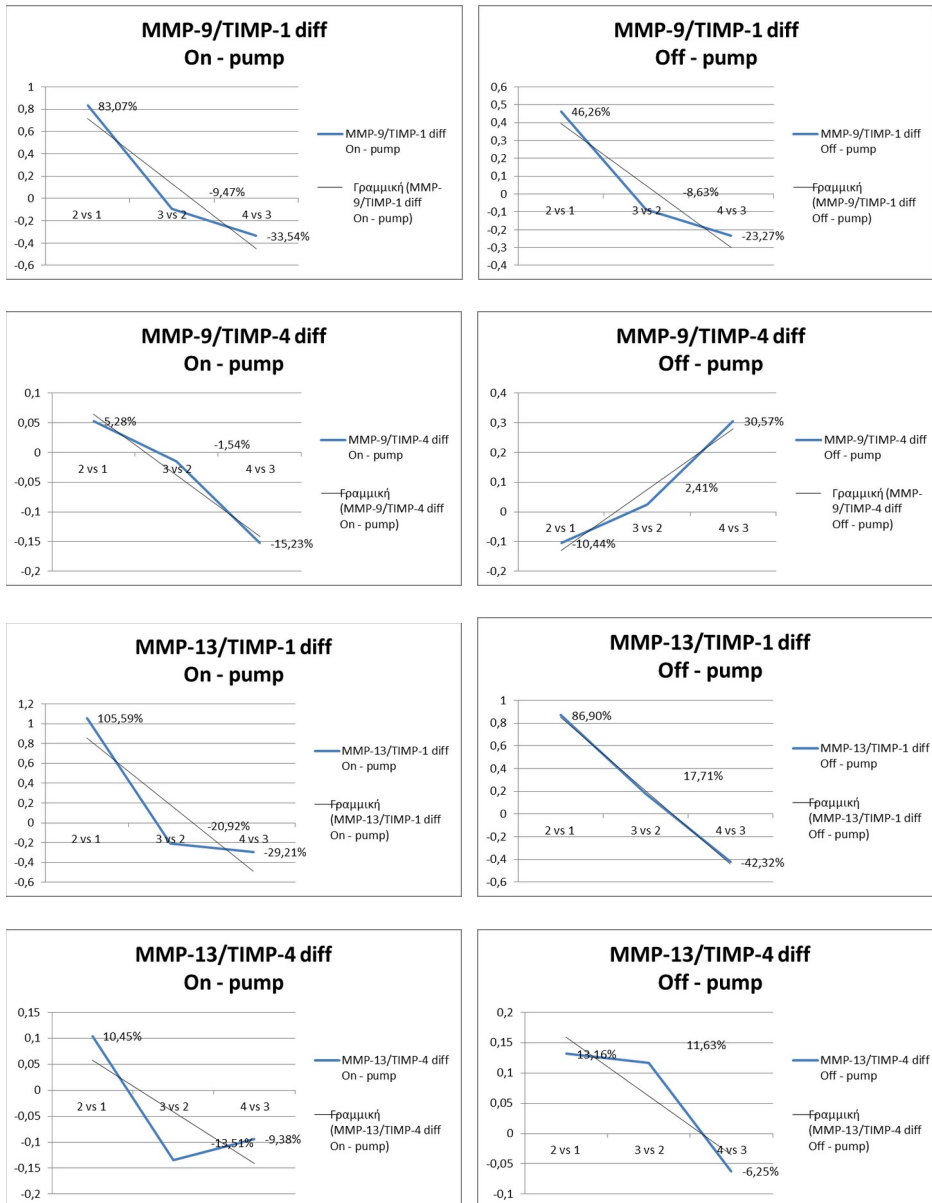
Πίνακας Π6.4: Αποτελέσματα ελέγχου Wilcoxon για τον λόγο MMP-13/TIMP-4 κατά τις διάφορες χρονικές στιγμές – Ομάδα Β

	TIME 1 vs TIME2	TIME 1 vs TIME3	TIME 1 vs TIME4	TIME 2 vs TIME3	TIME 2 vs TIME4	TIME 3 vs TIME4
Z	-3,248 ^b	-3,584 ^b	-3,584 ^b	-3,211 ^b	-2,912 ^b	-,747 ^c
Asymp. Sig. (2-tailed)	,001	,000	,000	,001	,004	,455

Σχήμα Π3.1: Ποσοστιαίες διαφορές μεταξύ των μέσων τιμών των μεταβλητών της Ομάδας Α κ Β ανά χρονική στιγμή.



Σχήμα Π3.2: Ποσοστιαίες διαφορές μεταξύ των μέσων τιμών των λόγων της Ομάδας Α κ Β ανά χρονική στιγμή.



References

1. de Jaegere PP, Suyker WJ. Off-pump coronary artery bypass surgery. *Heart* 2002; 88:313-318.
2. Konstantinov IE. Vasilii I Kolesov: a surgeon to remember. *Tex Heart Inst J* 2004; 31:349-358.
3. Mueller RL, Rosengart TK, Isom OW. The history of surgery for ischemic heart disease. *Ann Thorac Surg* 1997; 63:869-878.
4. Konstantinov IE. The first coronary artery bypass operation and forgotten pioneers. *Ann Thorac Surg* 1997; 64:1522-1523.
5. Shumacker HB, Jr. A surgeon to remember: notes about Vladimir Demikhov. *Ann Thorac Surg* 1994; 58:1196-1198.
6. Olearchyk AS. Vasilii I. Kolesov. A pioneer of coronary revascularization by internal mammary-coronary artery grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1988; 96:13-18.
7. Kolesov VI, Potashov LV. [Surgery of coronary arteries]. *Eksp Khir Anesteziol* 1965; 10:3-8.
8. Kolesov VI. Mammary artery-coronary artery anastomosis as method of treatment for angina pectoris. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1967; 54:535-544.
9. Effler DB. Vasilii I. Kolesov: pioneer in coronary revascularization. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1988; 96:183.
10. Favaloro RG. Saphenous vein autograft replacement of severe segmental coronary artery occlusion: operative technique. *Ann Thorac Surg* 1968; 5:334-339.
11. Favaloro RG, Effler DB, Groves LK et al. Double internal mammary artery-myocardial implantation. Clinical evaluation of results in 150 patients. *Circulation* 1968; 37:549-555.
12. Cushing WJ, Magovern GJ, Olearchyk AS. Internal mammary artery graft: retrospective report with 17 years' survival. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1986; 92:963-964.
13. Fou AA. John H. Gibbon. The first 20 years of the heart-lung machine. *Tex Heart Inst J* 1997; 24:1-8.

14. Nolan SP, Zacour R, Dammann JF. Reflections on the evolution of cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1997; 64:1540-1543.
15. Stoney WS. Evolution of cardiopulmonary bypass. *Circulation* 2009; 119:2844-2853.
16. Galletti PM. Cardiopulmonary bypass: a historical perspective. *Artif Organs* 1993; 17:675-686.
17. GIBBON JH, Jr. Application of a mechanical heart and lung apparatus to cardiac surgery. *Minn Med* 1954; 37:171-185.
18. LILLEHEI CW, COHEN M, WARDEN HE et al. The direct-vision intracardiac correction of congenital anomalies by controlled cross circulation; results in thirty-two patients with ventricular septal defects, tetralogy of Fallot, and atrioventricularis communis defects. *Surgery* 1955; 38:11-29.
19. Kirklin JW. Open-heart surgery at the Mayo Clinic. The 25th anniversary. *Mayo Clin Proc* 1980; 55:339-341.
20. Garrett HE, Dennis EW, DeBakey ME. Aortocoronary bypass with saphenous vein graft. Seven-year follow-up. *JAMA* 1973; 223:792-794.
21. Thanikachalam M, Lombardi P, Tehrani HY et al. The history and development of direct coronary surgery without cardiopulmonary bypass. *J Card Surg* 2004; 19:516-519.
22. Benetti FJ, Naselli G, Wood M et al. Direct myocardial revascularization without extracorporeal circulation. Experience in 700 patients. *Chest* 1991; 100:312-316.
23. Buffolo E, de Andrade CS, Branco JN et al. Coronary artery bypass grafting without cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1996; 61:63-66.
24. Buffolo E, Lima RC, Salerno TA. Myocardial revascularization without cardiopulmonary bypass: historical background and thirty-year experience. *Rev Bras Cir Cardiovasc* 2011; 26:III-VII.
25. Raja SG. Pump or no pump for coronary artery bypass: current best available evidence. *Tex Heart Inst J* 2005; 32:489-501.

26. Keenan TD, bu-Omar Y, Taggart DP. Bypassing the pump: changing practices in coronary artery surgery. *Chest* 2005; 128:363-369.
27. Halkos ME, Puskas JD. Off-pump versus on-pump coronary artery bypass grafting. *Surg Clin North Am* 2009; 89:913-22, ix.
28. Rankin JS, Oguntolu O, Binford RS et al. Management of immune dysfunction after adult cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2011; 142:575-580.
29. Murphy GJ, Angelini GD. Side effects of cardiopulmonary bypass: what is the reality? *J Card Surg* 2004; 19:481-488.
30. Markewitz A, Lante W, Franke A et al. Alterations of cell-mediated immunity following cardiac operations: clinical implications and open questions. *Shock* 2001; 16 Suppl 1:10-15.
31. Larmann J, Theilmeier G. Inflammatory response to cardiac surgery: cardiopulmonary bypass versus non-cardiopulmonary bypass surgery. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2004; 18:425-438.
32. Edmunds LH, Jr. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1998; 66:S12-S16.
33. Asimakopoulos G, Taylor KM. Effects of cardiopulmonary bypass on leukocyte and endothelial adhesion molecules. *Ann Thorac Surg* 1998; 66:2135-2144.
34. Menasche P. The systemic factor: the comparative roles of cardiopulmonary bypass and off-pump surgery in the genesis of patient injury during and following cardiac surgery. *Ann Thorac Surg* 2001; 72:S2260-S2265.
35. Abu-Omar Y, Taggart DP. The present status of off-pump coronary artery bypass grafting. *Eur J Cardiothorac Surg* 2009; 36:312-321.
36. Butler J, Parker D, Pillai R et al. Effect of cardiopulmonary bypass on systemic release of neutrophil elastase and tumor necrosis factor. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 105:25-30.
37. Topper JN, Cai J, Falb D et al. Identification of vascular endothelial genes differentially responsive to fluid mechanical

- stimuli: cyclooxygenase-2, manganese superoxide dismutase, and endothelial cell nitric oxide synthase are selectively up-regulated by steady laminar shear stress. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93:10417-10422.
38. Tsao PS, Lewis NP, Alpert S et al. Exposure to shear stress alters endothelial adhesiveness. Role of nitric oxide. *Circulation* 1995; 92:3513-3519.
 39. Butler J, Rocker GM, Westaby S. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1993; 55:552-559.
 40. Luscinskas FW, Gimbrone MA, Jr. Endothelial-dependent mechanisms in chronic inflammatory leukocyte recruitment. *Annu Rev Med* 1996; 47:413-421.
 41. Gimbrone MA, Jr., Nagel T, Topper JN. Biomechanical activation: an emerging paradigm in endothelial adhesion biology. *J Clin Invest* 1997; 100:S61-S65.
 42. Granger DN, Kubes P. The microcirculation and inflammation: modulation of leukocyte-endothelial cell adhesion. *J Leukoc Biol* 1994; 55:662-675.
 43. Wakefield CH, Carey PD, Foulds S et al. Polymorphonuclear leukocyte activation. An early marker of the postsurgical sepsis response. *Arch Surg* 1993; 128:390-395.
 44. Morse DS, Adams D, Magnani B. Platelet and neutrophil activation during cardiac surgical procedures: impact of cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1998; 65:691-695.
 45. Rothenburger M, Trosch F, Markewitz A et al. Leukocyte activation and phagocytotic activity in cardiac surgery and infection. *Cardiovasc Surg* 2002; 10:470-475.
 46. Kirklin JK, Westaby S, Blackstone EH et al. Complement and the damaging effects of cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1983; 86:845-857.
 47. Nomoto S, Shimahara Y, Kumada K et al. Influence of hepatic mitochondrial redox state on complement biosynthesis and activation during and after cardiopulmonary bypass operations. *Eur J Cardiothorac Surg* 1996; 10:273-278.

48. Chenoweth DE, Hugli TE. Demonstration of specific C5a receptor on intact human polymorphonuclear leukocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1978; 75:3943-3947.
49. Salama A, Hugo F, Heinrich D et al. Deposition of terminal C5b-9 complement complexes on erythrocytes and leukocytes during cardiopulmonary bypass. *N Engl J Med* 1988; 318:408-414.
50. Wachtfogel YT, Pixley RA, Kucich U et al. Purified plasma factor XIIIa aggregates human neutrophils and causes degranulation. *Blood* 1986; 67:1731-1737.
51. Quiroga MM, Miyagishima R, Haendschen LC et al. The effect of body temperature on leukocyte kinetics during cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1985; 90:91-96.
52. Hennein HA, Ebba H, Rodriguez JL et al. Relationship of the proinflammatory cytokines to myocardial ischemia and dysfunction after uncomplicated coronary revascularization. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 108:626-635.
53. Lahat N, Zlotnick AY, Shtiller R et al. Serum levels of IL-1, IL-6 and tumour necrosis factors in patients undergoing coronary artery bypass grafts or cholecystectomy. *Clin Exp Immunol* 1992; 89:255-260.
54. Jansen NJ, van OW, van den Broek L et al. Inhibition by dexamethasone of the reperfusion phenomena in cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991; 102:515-525.
55. Kawamura T, Wakusawa R, Okada K et al. Elevation of cytokines during open heart surgery with cardiopulmonary bypass: participation of interleukin 8 and 6 in reperfusion injury. *Can J Anaesth* 1993; 40:1016-1021.
56. Inaba H, Kochi A, Yoroza S. Suppression by methylprednisolone of augmented plasma endotoxin-like activity and interleukin-6 during cardiopulmonary bypass. *Br J Anaesth* 1994; 72:348-350.
57. Sawa Y, Shimazaki Y, Kadoba K et al. Attenuation of cardiopulmonary bypass-derived inflammatory reactions reduces myocardial reperfusion injury in cardiac operations. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996; 111:29-35.

58. Butler J, Chong GL, Baigrie RJ et al. Cytokine responses to cardiopulmonary bypass with membrane and bubble oxygenation. *Ann Thorac Surg* 1992; 53:833-838.
59. von Segesser LK. Writing off evidence in evidence-based medicine? *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2003; 2:403-404.
60. Ascione R, Lloyd CT, Underwood MJ et al. Inflammatory response after coronary revascularization with or without cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 2000; 69:1198-1204.
61. Wan S, Izzat MB, Lee TW et al. Avoiding cardiopulmonary bypass in multivessel CABG reduces cytokine response and myocardial injury. *Ann Thorac Surg* 1999; 68:52-56.
62. Matata BM, Sosnowski AW, Galinanes M. Off-pump bypass graft operation significantly reduces oxidative stress and inflammation. *Ann Thorac Surg* 2000; 69:785-791.
63. Elahi MM, Khan JS, Matata BM. Deleterious effects of cardiopulmonary bypass in coronary artery surgery and scientific interpretation of off-pump's logic. *Acute Card Care* 2006; 8:196-209.
64. Bruins P, te VH, Eerenberg-Belmer AJ et al. Heparin-protamine complexes and C-reactive protein induce activation of the classical complement pathway: studies in patients undergoing cardiac surgery and in vitro. *Thromb Haemost* 2000; 84:237-243.
65. Struber M, Cremer JT, Gohrbandt B et al. Human cytokine responses to coronary artery bypass grafting with and without cardiopulmonary bypass. *Ann Thorac Surg* 1999; 68:1330-1335.
66. Moat NE, Shore DF, Evans TW. Organ dysfunction and cardiopulmonary bypass: the role of complement and complement regulatory proteins. *Eur J Cardiothorac Surg* 1993; 7:563-573.
67. Giomarelli P, Scolletta S, Borrelli E et al. Myocardial and lung injury after cardiopulmonary bypass: role of interleukin (IL)-10. *Ann Thorac Surg* 2003; 76:117-123.

68. Steinberg JB, Kapelanski DP, Olson JD et al. Cytokine and complement levels in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993; 106:1008-1016.
69. Okubo N, Hatori N, Ochi M et al. Comparison of m-RNA expression for inflammatory mediators in leukocytes between on-pump and off-pump coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2003; 9:43-49.
70. Schulze C, Conrad N, Schutz A et al. Reduced expression of systemic proinflammatory cytokines after off-pump versus conventional coronary artery bypass grafting. *Thorac Cardiovasc Surg* 2000; 48:364-369.
71. Czerny M, Baumer H, Kilo J et al. Inflammatory response and myocardial injury following coronary artery bypass grafting with or without cardiopulmonary bypass. *Eur J Cardiothorac Surg* 2000; 17:737-742.
72. Diegeler A, Doll N, Rauch T et al. Humoral immune response during coronary artery bypass grafting: A comparison of limited approach, "off-pump" technique, and conventional cardiopulmonary bypass. *Circulation* 2000; 102:III95-100.
73. Vergnolle N, Derian CK, D'Andrea MR et al. Characterization of thrombin-induced leukocyte rolling and adherence: a potential proinflammatory role for proteinase-activated receptor-4. *J Immunol* 2002; 169:1467-1473.
74. Smedly LA, Tonnesen MG, Sandhaus RA et al. Neutrophil-mediated injury to endothelial cells. Enhancement by endotoxin and essential role of neutrophil elastase. *J Clin Invest* 1986; 77:1233-1243.
75. Martin W, Carter R, Tweddel A et al. Respiratory dysfunction and white cell activation following cardiopulmonary bypass: comparison of membrane and bubble oxygenators. *Eur J Cardiothorac Surg* 1996; 10:774-783.
76. Curello S, Ceconi C, de GF et al. Oxidative stress during reperfusion of human hearts: potential sources of oxygen free radicals. *Cardiovasc Res* 1995; 29:118-125.
77. Casati V, Gerli C, Franco A et al. Activation of coagulation and fibrinolysis during coronary surgery: on-pump versus off-pump techniques. *Anesthesiology* 2001; 95:1103-1109.

78. Gerritsen WB, van Boven WJ, Driessen AH et al. Off-pump versus on-pump coronary artery bypass grafting: oxidative stress and renal function. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001; 20:923-929.
79. Matata BM, Galinanes M. Cardiopulmonary bypass exacerbates oxidative stress but does not increase proinflammatory cytokine release in patients with diabetes compared with patients without diabetes: regulatory effects of exogenous nitric oxide. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000; 120:1-11.
80. Elahi MM, Khan JS, Matata BM. Deleterious effects of cardiopulmonary bypass in coronary artery surgery and scientific interpretation of off-pump's logic. *Acute Card Care* 2006; 8:196-209.
81. Ascione R, Lloyd CT, Gomes WJ et al. Beating versus arrested heart revascularization: evaluation of myocardial function in a prospective randomized study. *Eur J Cardiothorac Surg* 1999; 15:685-690.
82. Lockowandt U, Owall A, Franco-Cereceda A. Myocardial outflow of prostacyclin in relation to metabolic stress during off-pump coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg* 2000; 70:206-211.
83. Downing SW, Savage EB, Streicher JS et al. The stretched ventricle. Myocardial creep and contractile dysfunction after acute nonischemic ventricular distention. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992; 104:996-1005.
84. Selvanayagam JB, Petersen SE, Francis JM et al. Effects of off-pump versus on-pump coronary surgery on reversible and irreversible myocardial injury: a randomized trial using cardiovascular magnetic resonance imaging and biochemical markers. *Circulation* 2004; 109:345-350.
85. van DD, Nierich AP, Jansen EW et al. Early outcome after off-pump versus on-pump coronary bypass surgery: results from a randomized study. *Circulation* 2001; 104:1761-1766.
86. Libby P, Lee RT. Matrix matters. *Circulation* 2000; 102:1874-1876.
87. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res* 2006; 69:562-573.

88. Nagase H, Woessner JF, Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999; 274:21491-21494.
89. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res* 2003; 92:827-839.
90. Lee MH, Murphy G. Matrix metalloproteinases at a glance. *J Cell Sci* 2004; 117:4015-4016.
91. Murphy G, Nagase H. Progress in matrix metalloproteinase research. *Mol Aspects Med* 2008; 29:290-308.
92. Massova I, Kotra LP, Fridman R et al. Matrix metalloproteinases: structures, evolution, and diversification. *FASEB J* 1998; 12:1075-1095.
93. Maskos K. Crystal structures of MMPs in complex with physiological and pharmacological inhibitors. *Biochimie* 2005; 87:249-263.
94. Lukacova V, Zhang Y, Mackov M et al. Similarity of binding sites of human matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 2004; 279:14194-14200.
95. Massova I, Kotra LP, Fridman R et al. Matrix metalloproteinases: structures, evolution, and diversification. *FASEB J* 1998; 12:1075-1095.
96. Barbour JR, Spinale FG, Ikonomidis JS. Proteinase systems and thoracic aortic aneurysm progression. *J Surg Res* 2007; 139:292-307.
97. Bode W. Structural basis of matrix metalloproteinase function. *Biochem Soc Symp* 2003;1-14.
98. Maskos K, Bode W. Structural basis of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases. *Mol Biotechnol* 2003; 25:241-266.
99. Liu P, Sun M, Sader S. Matrix metalloproteinases in cardiovascular disease. *Can J Cardiol* 2006; 22 Suppl B:25B-30B.
100. Allaire E, Hasenstab D, Kenagy RD et al. Prevention of aneurysm development and rupture by local overexpression of

- plasminogen activator inhibitor-1. *Circulation* 1998; 98:249-255.
101. Garner JR, Stroud RE, Finklea L et al. The effects of leukocyte reduction on matrix metalloproteinase release in cardiopulmonary bypass. *J Extra Corpor Technol* 2004; 36:185-190.
 102. Joffs C, Gunasinghe HR, Multani MM et al. Cardiopulmonary bypass induces the synthesis and release of matrix metalloproteinases. *Ann Thorac Surg* 2001; 71:1518-1523.
 103. Steinberg J, Fink G, Picone A et al. Evidence of increased matrix metalloproteinase-9 concentration in patients following cardiopulmonary bypass. *J Extra Corpor Technol* 2001; 33:218-222.
 104. Wainwright CL. Matrix metalloproteinases, oxidative stress and the acute response to acute myocardial ischaemia and reperfusion. *Curr Opin Pharmacol* 2004; 4:132-138.
 105. Schneider S, Gunasinghe H, Sistino J et al. Effects of leukocyte depletion filters on matrix metalloproteinase activation in an extracorporeal circulation circuit. *J Extra Corpor Technol* 2003; 35:139-142.
 106. Bando K, Pillai R, Cameron DE et al. Leukocyte depletion ameliorates free radical-mediated lung injury after cardiopulmonary bypass. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1990; 99:873-877.
 107. Sawa Y, Matsuda H, Shimazaki Y et al. Evaluation of leukocyte-depleted terminal blood cardioplegic solution in patients undergoing elective and emergency coronary artery bypass grafting. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1994; 108:1125-1131.
 108. Pearl JM, Drinkwater DC, Jr., Laks H et al. Leukocyte-depleted reperfusion of transplanted human hearts prevents ultrastructural evidence of reperfusion injury. *J Surg Res* 1992; 52:298-308.
 109. Carney DE, Lutz CJ, Picone AL et al. Matrix metalloproteinase inhibitor prevents acute lung injury after cardiopulmonary bypass. *Circulation* 1999; 100:400-406.
 110. McCann UG, Gatto LA, Searles B et al. Matrix metalloproteinase inhibitor: differential effects on pulmonary

- neutrophil and monocyte sequestration following cardiopulmonary bypass. *J Extra Corpor Technol* 1999; 31:67-75.
111. Galt SW, Lindemann S, Medd D et al. Differential regulation of matrix metalloproteinase-9 by monocytes adherent to collagen and platelets. *Circ Res* 2001; 89:509-516.
 112. Galley HF, Macaulay GD, Webster NR. Matrix metalloproteinase-9, tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and tumour necrosis factor alpha release during cardiopulmonary bypass. *Anaesthesia* 2002; 57:659-662.
 113. Yao PM, Maitre B, Delacourt C et al. Divergent regulation of 92-kDa gelatinase and TIMP-1 by HBECs in response to IL-1beta and TNF-alpha. *Am J Physiol* 1997; 273:L866-L874.
 114. Mayers I, Hurst T, Puttagunta L et al. Cardiac surgery increases the activity of matrix metalloproteinases and nitric oxide synthase in human hearts. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2001; 122:746-752.
 115. Cheung PY, Sawicki G, Salas E et al. The mechanisms of platelet dysfunction during extracorporeal membrane oxygenation in critically ill neonates. *Crit Care Med* 2000; 28:2584-2590.
 116. Cheung PY, Sawicki G, Wozniak M et al. Matrix metalloproteinase-2 contributes to ischemia-reperfusion injury in the heart. *Circulation* 2000; 101:1833-1839.
 117. Guenzinger R, Lahm H, Wottke M et al. Role of metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases during cardiopulmonary bypass in rats. *ASAIO J* 2012; 58:204-211.
 118. Lalu MM, Pasini E, Schulze CJ et al. Ischaemia-reperfusion injury activates matrix metalloproteinases in the human heart. *Eur Heart J* 2005; 26:27-35.
 119. Bendeck MP, Irvin C, Reidy MA. Inhibition of matrix metalloproteinase activity inhibits smooth muscle cell migration but not neointimal thickening after arterial injury. *Circ Res* 1996; 78:38-43.
 120. Peterson JT, Hallak H, Johnson L et al. Matrix metalloproteinase inhibition attenuates left ventricular remodeling and

- dysfunction in a rat model of progressive heart failure. *Circulation* 2001; 103:2303-2309.
121. Rohde LE, Ducharme A, Arroyo LH et al. Matrix metalloproteinase inhibition attenuates early left ventricular enlargement after experimental myocardial infarction in mice. *Circulation* 1999; 99:3063-3070.
 122. Spinale FG, Coker ML, Heung LJ et al. A matrix metalloproteinase induction/activation system exists in the human left ventricular myocardium and is upregulated in heart failure. *Circulation* 2000; 102:1944-1949.
 123. Fernandez-Patron C, Stewart KG, Zhang Y et al. Vascular matrix metalloproteinase-2-dependent cleavage of calcitonin gene-related peptide promotes vasoconstriction. *Circ Res* 2000; 87:670-676.
 124. Sawicki G, Salas E, Murat J et al. Release of gelatinase A during platelet activation mediates aggregation. *Nature* 1997; 386:616-619.
 125. Fernandez-Patron C, Radomski MW, Davidge ST. Vascular matrix metalloproteinase-2 cleaves big endothelin-1 yielding a novel vasoconstrictor. *Circ Res* 1999; 85:906-911.
 126. McQuibban GA, Gong JH, Tam EM et al. Inflammation dampened by gelatinase A cleavage of monocyte chemoattractant protein-3. *Science* 2000; 289:1202-1206.
 127. Cheung PY, Sawicki G, Wozniak M et al. Matrix metalloproteinase-2 contributes to ischemia-reperfusion injury in the heart. *Circulation* 2000; 101:1833-1839.
 128. Wang W, Schulze CJ, Suarez-Pinzon WL et al. Intracellular action of matrix metalloproteinase-2 accounts for acute myocardial ischemia and reperfusion injury. *Circulation* 2002; 106:1543-1549.
 129. Breisblatt WM, Stein KL, Wolfe CJ et al. Acute myocardial dysfunction and recovery: a common occurrence after coronary bypass surgery. *J Am Coll Cardiol* 1990; 15:1261-1269.
 130. Lopaschuk GD. [Treating ischemic heart disease by pharmacologically improving cardiac energy metabolism]. *Presse Med* 1998; 27:2100-2104.

131. Yasmin W, Strynadka KD, Schulz R. Generation of peroxynitrite contributes to ischemia-reperfusion injury in isolated rat hearts. *Cardiovasc Res* 1997; 33:422-432.
132. Gao WD, Liu Y, Mellgren R et al. Intrinsic myofilament alterations underlying the decreased contractility of stunned myocardium. A consequence of Ca²⁺-dependent proteolysis? *Circ Res* 1996; 78:455-465.
133. Spinale FG, Koval CN, Deschamps AM et al. Dynamic changes in matrix metalloproteinase activity within the human myocardial interstitium during myocardial arrest and reperfusion. *Circulation* 2008; 118:S16-S23.
134. Sokal A, Zembala M, Radomski A et al. A differential release of matrix metalloproteinases 9 and 2 during coronary artery bypass grafting and off-pump coronary artery bypass surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2009; 137:1218-1224.
135. Fujiwara T, Saito S, Osanai T et al. Decreased plasma and cardiac matrix metalloproteinase activities in patients with coronary artery disease and treated with pravastatin. *Eur J Pharmacol* 2008; 594:146-151.
136. Kalela A, Linnell V, Aittoniemi J et al. Serum matrix metalloproteinase-9 and venous bypass graft occlusion. *Scand J Clin Lab Invest* 2006; 66:7-14.
137. Watanabe M, Hasegawa S, Ohshima N et al. Differential regulation of MMP-2, TIMP-2 and IL-6 in valve replacement versus CABG patients. *Perfusion* 2002; 17:435-439.
138. Kadoglou NP, Daskalopoulou SS, Perrea D et al. Matrix metalloproteinases and diabetic vascular complications. *Angiology* 2005; 56:173-189.
139. Tayebjee MH, Lip GY, MacFadyen RJ. What role do extracellular matrix changes contribute to the cardiovascular disease burden of diabetes mellitus? *Diabet Med* 2005; 22:1628-1635.
140. Demedts IK, Brusselle GG, Bracke KR et al. Matrix metalloproteinases in asthma and COPD. *Curr Opin Pharmacol* 2005; 5:257-263.
141. Belvisi MG, Bottomley KM. The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in the pathophysiology of chronic

- obstructive pulmonary disease (COPD): a therapeutic role for inhibitors of MMPs? *Inflamm Res* 2003; 52:95-100.
142. Birkedal-Hansen H, Moore WG, Bodden MK et al. Matrix metalloproteinases: a review. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993; 4:197-250.
 143. Smith EE, Naftel DC, Blackstone EH et al. Microvascular permeability after cardiopulmonary bypass. An experimental study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1987; 94:225-233.
 144. Galis ZS, Muszynski M, Sukhova GK et al. Cytokine-stimulated human vascular smooth muscle cells synthesize a complement of enzymes required for extracellular matrix digestion. *Circ Res* 1994; 75:181-189.
 145. Herron GS, Werb Z, Dwyer K et al. Secretion of metalloproteinases by stimulated capillary endothelial cells. I. Production of procollagenase and prostromelysin exceeds expression of proteolytic activity. *J Biol Chem* 1986; 261:2810-2813.
 146. Bhatia M, Saluja AK, Hofbauer B et al. The effects of neutrophil depletion on a completely noninvasive model of acute pancreatitis-associated lung injury. *Int J Pancreatol* 1998; 24:77-83.
 147. Nagase H. Activation mechanisms of matrix metalloproteinases. *Biol Chem* 1997; 378:151-160.
 148. Murphy G, Willenbrock F, Crabbe T et al. Regulation of matrix metalloproteinase activity. *Ann N Y Acad Sci* 1994; 732:31-41.
 149. Lin TC, Li CY, Tsai CS et al. Neutrophil-mediated secretion and activation of matrix metalloproteinase-9 during cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. *Anesth Analg* 2005; 100:1554-1560.
 150. Jeyabalan A, Novak J, Doty KD et al. Vascular matrix metalloproteinase-9 mediates the inhibition of myogenic reactivity in small arteries isolated from rats after short-term administration of relaxin. *Endocrinology* 2007; 148:189-197.
 151. Fernandez-Patron C, Martinez-Cuesta MA, Salas E et al. Differential regulation of platelet aggregation by matrix metalloproteinases-9 and -2. *Thromb Haemost* 1999; 82:1730-1735.

152. Santos-Martinez MJ, Medina C, Jurasz P et al. Role of metalloproteinases in platelet function. *Thromb Res* 2008; 121:535-542.
153. Kelly D, Cockerill G, Ng LL et al. Plasma matrix metalloproteinase-9 and left ventricular remodelling after acute myocardial infarction in man: a prospective cohort study. *Eur Heart J* 2007; 28:711-718.