



# ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΜΕΤΑΛΛΟΠΡΩΤΕΪΝΑΣΩΝ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΣΥΓΚΑΛΛΥΜΕΝΗ ΥΠΕΡΤΑΣΗ

Σπυρόπουλος Σ<sup>1</sup>, Παπαδόπουλος Δ<sup>1</sup>, Περρέα Δ<sup>2</sup>, Μουρούζης Ι<sup>1</sup>,  
Δελαπόρτας Α<sup>1</sup>, Μάσσιας Σ<sup>2</sup>, Θωμόπουλος Κ<sup>2</sup>, Μακρής Θ<sup>3</sup>, Βοττέας Β<sup>1</sup>



<sup>1</sup>ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ, Γ.Ν.Α. “ΛΑΪΚΟ”

<sup>2</sup>ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗΣ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ & ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗΣ  
ΕΡΕΥΝΑΣ «Ν.Σ.ΧΡΗΣΤΕΑΣ», ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ ΑΘΗΝΩΝ, ΕΘΝΙΚΟ  
ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

<sup>3</sup>ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ, Γ.Ν.Α. «ΕΛΕΝΑ ΒΕΝΙΖΕΛΟΥ»

# Συγκαλυμμένη υπέρταση (ΣΥ)

- Κλινική κατάσταση κατά την οποία η ΑΠ του ασθενούς κατά τη μέτρηση στο ιατρείο είναι μικρότερη των 140/90mmHg, ενώ οι τιμές ΑΠ των μετρήσεων στο σπίτι ή της 24ωρης καταγραφής (ABPM, ambulatory blood pressure monitoring) είναι εντός του υπερτασικού εύρους.

# Συγκαλυμμένη υπέρταση:

## Σημαντικός παράγοντας καρδιαγγειακής νόσου

Διασταυρούμενες μελέτες

Συσχέτιση με:

- Αυξημένο δείκτη μάζας της αριστερής κοιλίας.
- Prevalence of left ventricular hypertrophy in hypertensive patients without and with blood pressure control: data from the PAMELA population. *Hypertension* 2002
- Πάχυνση του έσω χιτώνα των καρωτίδων.
- Detection of carotid atherosclerosis in individuals with masked hypertension and white-coat hypertension by self-measured blood pressure at home: The Ohasama Study. *J Hypertens* 2007

# Συγκαλυμμένη υπέρταση:

## Σημαντικός παράγοντας καρδιαγγειακής νόσου

Προοπτικές μελέτες

Προγνωστικός παράγοντας:

- έκβασης καρδιαγγειακής νόσου
  - Cardiovascular outcome in treated hypertensive patients with responder, masked, false resistant, and true resistant hypertension. Am J Hypertens 2005
- θνησιμότητας
  - Long-term risk of mortality associated with selective and combined elevation in office, home, and ambulatory blood pressure. Hypertension 2006
- βλάβης οργάνων στόχων
  - Masked hypertension and target organ damage in treated hypertensive patients. Am J Hypertens 2006

# Μεταλλοπρωτεΐνάσες υποστρώματος

## MMPs, matrix metalloproteinases

- Εξαρτούμενες από τον ψευδάργυρο ενδοπεπτιδάσες.
- Αποσυνθέτουν όλα τα συστατικά του εξωκυττάριου στρώματος (ΕΚΣ, ECM, extracellular matrix) σε φυσιολογικό pH.
  - Κολλαγόνο, ελαστίνη, ινιδίνη, ινωδονεκτίνη.
- Συμμετέχουν σε οξείς φλεγμονώδεις διαδικασίες.
- Συμμετέχουν σε χρόνιες διαδικασίες (remodeling της ΑΚ-αγγείων, αθηρωμάτωση).

# Ιστικοί αναστολείς μεταλλοπρωτεϊνών

## TIMPs, tissue inhibitors of metalloproteinases

- Ενδογενείς αναστολείς που ελέγχουν τη δραστικότητα των MMPs.
- Ο TIMP-1 υπερεκφράζεται και σχηματίζει υψηλής συγγένειας και μη-αναστρέψιμα συμπλέγματα με τις MMPs.
- Ο TIMP-4 είναι ο πιο πολυπληθής αναστολέας MMPs στο μυοκάρδιο ανθρώπων και ποντικών.

# Αναλογία δραστηριότητας MMPs/TIMPs

- Η διαταραχή της MMP-9/TIMP-1 αναλογίας δραστηριότητας ενδέχεται να υποκρύπτεται στην παθογένεια καρδιαγγειακών νόσων:
  - αρτηριακή υπέρταση
  - ανεύρυσμα της κοιλιακής αορτής
  - φλεβικοί κιρσοί
  - προεκλαμψία
  - έμφραγμα του μυοκαρδίου
  - καρδιακή ανεπάρκεια
  - διατατική μυοκαρδιοπάθεια

# Αναλογία δραστηρότητας MMPs/TIMPs και ΑΥ

- Μεγάλη συσχέτιση των επιπέδων πλάσματος της MMP-9, TIMP-1 και TIMP-4 και της ΑΠ σε υγιείς προϋπερτασικούς.
- Changes of Metalloproteinases in Healthy Normotensives with High Normal Blood Pressure. Eur Cytokine Network 2005;16:211-214
- Σημαντικός ρόλος στη δομική, λειτουργική και κλινική εκδήλωση της υπερτασικής νόσου.
- Matrix metalloproteinases/tissue inhibitors of metalloproteinases: relationship between changes in proteolytic determinants of matrix composition and structural, functional, and clinical manifestations of hypertensive heart disease. Circulation 2006;113:2089-96

# Ερευνητικά δεδομένα

- Η υπέρταση σχετίζεται με remodeling των αγγείων, που χαρακτηρίζεται από αναδιάταξη των συστατικών του αγγειακού τοιχώματος, συμπεριλαμβανομένου των πρωτεϊνών του ΕΚΣ.
- Matrix metalloproteinase's in cardiovascular disease. Can J Cardiol 2006 Suppl B: 25B-30B
- Ανάμειξη της διαταραχής του μεταβολισμού των πρωτεϊνών του ΕΚΣ στο μηχανισμό της υπέρτασης.
- Matrix metalloproteinases and their inhibitors in vascular remodeling and vascular disease. Biochem Pharmacol 2007 Jul 7
- Οι MMPs ενδέχεται να έχουν σημαντική και πλειοτρόπο επίδραση στη λειτουργία των αγγείων και στην πρόοδο της καρδιοαγγειακής νόσου.
- Clinical significance of matrix metalloproteinases activity in acute myocardial infarction Eur Cytokine Network 2005;16;:52-160

# Σκοπός της μελέτης

- Διερεύνηση μεταβολών της αποσύνθεσης του κολλαγόνου σε ασθενείς με ΣΥ.
- Συσχέτιση των μεταβολών αυτών με διαταραχές της συγκέντρωσης των κυκλοφορούντων MMPs.
- Σύγκριση των ευρημάτων με εκείνα ατόμων με φυσιολογικές τιμές ΑΠ, μετά από προσαρμογή για ηλικία, φύλλο και δείκτη μάζας σώματος.

# Υλικό και μέθοδοι

- 130 άτομα (60 άνδρες, 70 γυναίκες).
- Ελληνικής καταγωγής.
- Παρακολούθηση στο Υπερτασικό Ιατρείο της Καρδιολογικής Κλινικής ή υποβλήθηκαν σε καρδιολογική εκτίμηση.
- Μέση ηλικία  $45 \pm 12$  έτη.
- Τιμές κλινικής μέτρησης ΑΠ  $< 140/90 \text{ mmHg}$ .
- 24ωρη καταγραφή ΑΠ.

Υλικό και μέθοδοι

## Διάγνωση ασθενών με ΣΥ

- Η ένταξη των ασθενών με ΣΥ στη μελέτη έγινε σύμφωνα με τον ορισμό της ΕΕΥ για την ΣΥ (Κατευθυντήριες Οδηγίες για την Υπέρταση της ΕΕΥ, έκδοση 2007) :
- Τιμές κλινικής  $ΑΠ < 140/90 \text{ mmHg}$ .
- Τιμές  $ΣΑΠ > 135 \text{ mmHg}$  ή  $ΔΑΠ > 85 \text{ mmHg}$  κατά τη διάρκεια της ημέρας (daytime BP).

Υλικό και μέθοδοι

## Άτομα με φυσιολογικές τιμές ΑΠ

- Οι συμμετέχοντες με φυσιολογικές τιμές ΑΠ εντάχθηκαν στη μελέτη κατά τη διάρκεια καρδιολογικής εκτίμησης στα πλαίσια προεγχειρητικού ελέγχου (ορθοπεδικά, οφθαλμολογικά ή παρόμοια προβλήματα υγείας).
- Περιλήφθηκαν στη μελέτη εφόσον:
  - παρουσίαζαν φυσιολογικές τιμές κλινικής μέτρησης ΑΠ
  - δεν παρουσίαζαν σοβαρά συνοδά νοσήματα
  - δεν λάμβαναν φαρμακευτικούς παράγοντες που ήταν γνωστό ότι θα επηρέαζαν τις παραμέτρους της μελέτης (πχ, ασπιρίνη, κλπ).

Υλικό και μέθοδοι

# Ομάδες μελέτης

## Αποτελέσματα ABPM

- Ομάδα A:
  - 24 ασθενείς (11 άνδρες, 13 γυναίκες) με ΣΥ.
  - Μέση ηλικία  $46 \pm 7$  έτη.
  - BMI  $25.9 \pm 2.1$  Kg/m<sup>2</sup>
- Ομάδα B:
  - 106 νορμοτασικοί (49 άνδρες, 57 γυναίκες).
  - Μέση ηλικία  $44 \pm 6$  έτη.
  - BMI  $25.5 \pm 2.4$  Kg/m<sup>2</sup>



# Υλικό και μέθοδοι

Ο πληθυσμός της ομάδας A και B:

- Δεν λάμβανε φαρμακευτική αγωγή.
  - Δεν έκανε χρήση καπνού.
  - Συγκεκριμένη δίαιτα προ της εισαγωγής στη μελέτη.
  - Ελεύθερος θυρεοειδοπάθειας.
- 

# Υλικό και μέθοδοι

- **Κατανάλωση αλκοόλ:** διευκρινίστηκε μέσω απαντήσεων σε πρότυπο ερωτηματολόγιο σχετικά με την ημερήσια κατανάλωση κρασιού, λικέρ και μπύρας και εκφράστηκε σε γραμμάρια (gr) ανά ημέρα.
- **Φυσική άσκηση:** πληροφορίες μέσω απαντήσεων σε πρότυπο ερωτηματολόγιο.



# Υλικό και μέθοδοι

- Προ της μελέτης λήφθηκε έγγραφη συγκατάθεση από κάθε συμμετέχοντα που εγκρίθηκε από την Επιστημονική Επιτροπή του νοσοκομείου.
- 

Υλικό και μέθοδοι

## Έλεγχος κατά την έναρξη της μελέτης

- Αντικειμενική εξέταση.
- Λήψη ατομικού αναμνηστικού.
- Εργαστηριακός έλεγχος.
- Εκτίμηση των παραγόντων κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου.
- Λήψη ΗΚΓ.
- Σωματομετρικά: ΣΒ (kg) με ελαφρά ένδυση και ύψους (m) χωρίς υποδήματα, υπολογισμός του BMI ( $\text{ΣΒ}/\text{ύψος σε kg/m}^2$ ).

Υλικό και μέθοδοι

## Κλινική μέτρηση ΑΠ

- Μέτρηση συστολικής ΑΠ (ΣΑΠ) και διαστολικής ΑΠ (ΔΑΠ) κατά την ακρόαση του πρώτου και του πέμπτου ήχου Korotkoff αντίστοιχα.
- Μετρήσεις με τον συμμετέχοντα σε ύπτια θέση μετά από ξεκούραση 15min.
- Ίδιος εκπαιδευμένος ερευνητής, που δεν ήταν ενήμερος για το αναμνηστικό των συμμετεχόντων.
- Τα αποτελέσματα εξάχθηκαν από το μέσο όρο τριών ξεχωριστών μετρήσεων.

Υλικό και μέθοδοι

## Μέτρηση ΑΠ στο σπίτι

- Μέσες τιμές μετρήσεων monitoring και απογευματινών μετρήσεων με ημιαυτόματη συσκευή.

## 24ωρη καταγραφή ΑΠ

ABPM, Ambulatory Blood Pressure Monitoring

- Spacelabs 90207
- Μετρήσεις ανά 20min κατά τη διάρκεια της ημέρας (10:00-08:00) και ανά 40min κατά τη διάρκεια της νύχτας (00:00-06:00) για 24h.



Υλικό και μέθοδοι

# Μέτρηση ΑΠ

- Έντυπο ημερήσιων δραστηριοτήτων.
  - Ακριβείς πληροφορίες για τις ώρες κατάκλισης και αφύπνισης.
  - Σύσταση να ακολουθούν τις συνήθειες καθημερινές δραστηριότητες τους κατά την περίοδο της παρακολούθησης.
- 

Υλικό και μέθοδοι

## Δείγματα φλεβικού αίματος

- Λήψη μεταξύ 08:00 και 09:00.
- Χωρίς στάση.
- Μετά από 10min ηρεμίας.
- Ύπτια θέση.
- Χωρίς προηγούμενη έντονη φυσική δραστηριότητα.
- Χωρίς προηγούμενη χρήση καπνού.
- Νηστεία τουλάχιστο 12 ωρών.

Υλικό και μέθοδοι

## Δείγματα φλεβικού αίματος

- Πλαστικά σωληνάρια συλλογής δειγμάτων αίματος.
- Χωρίς προσθήκη αντιαιμοπεταλιακών παραγόντων.
- Παραμονή για 30min σε θερμοκρασία 25° C ώσπου να σχηματιστεί θρόμβος.
- Εξαίρεση θρόμβου δια φυγοκέντρησης σε 3000rpm για 15min σε θερμοκρασία 4° C.
- Υποπολλαπλασμός πλάσματος.
- Αποθήκευση σε θερμοκρασία -20° C.
- Ανάλυσή περίπου 1 μήνα μετά τη συλλογή.

Υλικό και μέθοδοι

## Μετρήσεις MMP-9, TIMP-1 και TIMP-4

- Μετρήσεις περιεκτικότητας MMP-9, TIMP-1 και TIMP-4.

Kit ανοσοχημικής μέτρησης περιεκτικότητας (ELISA)

R&D Systems Inc., Minneapolis, USA.

- Ποσοτικός προσδιορισμός του συμπλέγματος MMP-9/TIMP-4.

Ανθρώπινο MMP-9/TIMP-4 σύμπλεγμα

Duoset R&D Systems, Minneapolis, USA

# Αποτελέσματα

Δημογραφικά χαρακτηριστικά και παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου

|                           | Ομάδα Α<br>(n=24) | Ομάδα Β<br>(n=106) | <i>p value</i> |
|---------------------------|-------------------|--------------------|----------------|
| Ηλικία (έτη)              | 46±7              | 44±6               | NS             |
| Φύλλο (Α/Θ)               | 11/13             | 49/57              | NS             |
| BMI (kg/m <sup>2</sup> )  | 25.9±2.1          | 25.5±2.4           | NS             |
| SBP clinic (mmHg)         | 125±8             | 124±7              | NS             |
| DBP clinic (mmHg)         | 80±3              | 79±4               | NS             |
| Total Cholesterol (mg/dl) | 234±26            | 232±25             | NS             |
| HDL (mg/dl)               | 43±6              | 42±4               | NS             |
| LDL (mg/dl)               | 160±30            | 156±27             | NS             |
| Triglycerides (mg/dl)     | 99±31             | 102±32             | NS             |

# Αποτελέσματα

MMP-9, TIMP-1, TIMP-4, ημερήσια αρτηριακή πίεση

|                         | Ομάδα Α<br>(n=24) | Ομάδα Β<br>(n=106) | <i>p value</i> |
|-------------------------|-------------------|--------------------|----------------|
| MMP-9 (ng/ml)           | 569±135           | 282±117            | <0.01          |
| TIMP-1 (ng/ml)          | 169±42            | 230±37             | <0.01          |
| TIMP-4 (ng/ml)          | 2.1±1.3           | 4.2±1.98           | <0.04          |
| Mean Daytime SBP (mmHg) | 138±6             | 122±7              | <0.01          |
| Mean Daytime DBP (mmHg) | 90±4              | 79±4               | <0.01          |

# Συμπεράσματα

Η ανάδειξη σημαντικής αύξησης των επιπέδων πλάσματος της MMP-9 και μείωσης του TIMP-1:

- Ίσως να αντανακλά έναν **πρώιμο προγνωστικό δείκτη μελλοντικής ανάπτυξης καρδιαγγειακής νόσου**, εφόσον οι MMPs έχουν έμμεση επίδραση σε μηχανισμούς αγγειακής χάλασης και σύσπασης.
- Ενδεχομένως να σημαίνει την **έναρξη και την εξέλιξη του remodeling και της δυσλειτουργίας της ΑΚ** σε ασθενείς με ΣΥ.



# Περιορισμοί της μελέτης

- Αδυναμία λήψης υλικού βιοψίας από το μυοκάρδιο.
  - Δυσκολία διαχωρισμού ελεύθερης μορφής MMP-9, TIMP-1, TIMP-4 και συμπλεγμάτων κατά τη μέτρηση με τα kit ELISA.
  - Δεν διενεργήθηκε ανάλυση παλινδρόμησης λόγω του μικρού δείγματος ασθενών.
- 



# Μεταβολές των επιπέδων MMP-9 σε ασθενείς με συγκαλυμμένη υπέρταση

- Η παρούσα μελέτη αποτελεί την πρώτη μελέτη που εμφανίζεται στη βιβλιογραφία σχετικά με τα επίπεδα των MMPs και TIMPs σε ασθενείς με ΣΥ.
- 

ΕΥΧΑΡΙΣΤΩ