

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΟΣΤΩΝ ΚΑΙ ΑΡΘΡΩΣΕΩΝ ΖΩΙΚΩΝ ΜΟΝΤΕΛΩΝ ΜΕ ΕΛΛΕΙΨΗ ΤΟΥ ΑΥΞΗΤΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΤΗΣ ΠΛΕΙΟΤΡΟΠΙΝΗΣ ΜΕ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ RAMAN ΚΑΙ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΤΟΜΟΓΡΑΦΙΑΣ ΑΚΤΙΝΩΝ-Χ

Π. Γιαννούτσου¹, Π. Καστανά², Α. Κασπίρης², Χ. Κοντογιάννης^{1,3}, Ε. Παπαδημητρίου², Μ. Όρκουλα^{1,*}

¹Εργαστήριο Ενόργανης Φαρμακευτικής ανάλυσης, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, Ελλάδα

²Εργαστήριο Μοριακής Φαρμακολογίας, Τμήμα Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πατρών, Ελλάδα

³ΙΤΕ/ΙΕΧΜΗ, Πάτρα, Ελλάδα

(*malbie@upatras.gr)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η Πλειοτροπίνη (PTN) είναι ένα εκκρινόμενο, πλούσιο σε λυσίνη πεπτίδιο, το οποίο λειτουργεί ως αυξητικός παράγοντας και εκφράζεται στα οστά. Η συσχέτιση της PTN με τη σκελετική ομοίωση και τις σκελετικές ασθένειες, είναι υπό διερεύνηση. Έχει βρεθεί ότι η PTN υπερεκφράζεται σε ασθενείς με οστεοαρθρίτιδα, χωρίς να είναι γνωστός μέχρι σήμερα ο ρόλος της στην παθοφυσιολογία της ασθένειας.

Η οστεοαρθρίτιδα είναι μια εκφυλιστική ασθένεια που προσβάλλει τις αρθρώσεις (κυρίως το γόνατο και το ισχίο). Η βασική παθολογία της περιλαμβάνει εκφύλιση/λέπτυνση του αρθρικού χόνδρου και σκλήρυνση του υποχόνδρινου οστού.

Η κατάσταση των αρθρώσεων εκτιμάται συνήθως με κλινική εξέταση, μελέτες απεικόνισης και ιστοπαθολογικές αναλύσεις. Στην παρούσα εργασία, χρησιμοποιήθηκε η φασματοσκοπία Raman που δίνει πληροφορίες για τη σύσταση των ιστών και η μικροτομογραφία ακτίνων Χ για τη δημιουργία τρισδιάστατων απεικονίσεων.

Για τη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν αρσενικοί και θηλυκοί μύες, strain Black6, ηλικίας ενάμιση μήνα και ενός χρόνου. Η κάθε ηλικιακή ομάδα περιλάμβανε μύες που εξέφραζαν την PTN ("control", +/-) και μύες στους οποίους έχει γίνει ολική απαλοιφή του γονιδίου της PTN ("knockout", -/-). Φασματόμετρο micro-Raman χρησιμοποιήθηκε για τη λήψη φασμάτων από το δεξιό πίσω άκρο των μυών. Μελετήθηκαν κορυφές συστατικών των οστών, όπως η κύρια κορυφή των φωσφορικών (PO_4^{3-}) του βιοαπατίτη στους 960cm^{-1} , οι κορυφές στους 855cm^{-1} , 875cm^{-1} και 920cm^{-1} (προλίνη και υδροξυπρολίνη του κολλαγόνου) και οι δύο κύριες κορυφές της περιοχής του αμιδίου I του κολλαγόνου (1668 , 1688cm^{-1}). Από τις εντάσεις των κορυφών αυτών υπολογίστηκαν οι αναλογίες βιοπατίτη προς κολλαγόνο και μη-αναγώγιμων προς αναγώγιμους σταυροδεσμούς (δείκτης ποιότητας) του δικτύου του κολλαγόνου. Τέλος, επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων από τη φασματοσκοπία Raman έγινε με μικροτομογραφία Ακτίνων-Χ (micro-CT).

Παρατηρήθηκε ότι σε knockout πειραματόζωα ηλικίας ενός χρόνου εντοπίζεται στατιστικώς σημαντική αύξηση του λόγου βιοπατίτη προς κολλαγόνο [$960\text{cm}^{-1}/(855\text{cm}^{-1}+875\text{cm}^{-1}+920\text{cm}^{-1})$] της κεφαλής του μηριαίου οστού σε σχέση με τα control δείγματα. Το αποτέλεσμα αυτό υποδεικνύει ότι το σήμα που λαμβάνεται προέρχεται περισσότερο από το υποχόνδρινο οστό της κεφαλής μηριαίου, το οποίο μάλλον είναι εκτεθειμένο λόγω φθοράς του χόνδρου. Ακόμη, παρατηρείται μείωση του λόγου των σταυροδεσμών του κολλαγόνου ($1668\text{cm}^{-1}/1688\text{cm}^{-1}$), άρα πιθανώς υποβάθμιση της ποιότητάς του. Τα παραπάνω στοιχεία από τις κεφαλές των μηριαίων οστών των PTN^{-/-} μυών παραπέμπουν σε αλλοιώσεις που προσομοιάζουν της οστεοαρθρίτιδας. Η υπόθεση αυτή στηρίζεται και από τις εικόνες που λήφθηκαν από το micro-CT. Ο χόνδρος δε διακρίνεται στα δείγματα από PTN^{-/-} μύες ηλικίας ενός χρόνου, ενώ είναι εμφανής στα αντίστοιχα δείγματα μυών PTN^{+/-}. Όσον αφορά στα πειραματόζωα ηλικίας ενάμιση μήνα, παρουσιάζεται στατιστικώς μη σημαντική μείωση του λόγου βιοπατίτη προς κολλαγόνο και του λόγου των σταυροδεσμών του κολλαγόνου στις κεφαλές των knockout δειγμάτων. Επιπλέον δεν παρουσιάζονται διαφοροποιήσεις μεταξύ των εικόνων control και knockout κεφαλών μηριαίου στο micro-CT.

Από τα παραπάνω πειραματικά αποτελέσματα φαίνεται πως υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του αυξητικού παράγοντα PTN και της οστεοαρθρίτιδας. Συγκεκριμένα, στις μεγάλες ηλικίες η έλλειψη PTN οδηγεί σε εκφύλιση του αρθρικού χόνδρου και εκδήλωση της πάθησης.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Μέρος του έργου συγχρηματοδοτείται από την Ελλάδα και την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Ανάπτυξη Ανθρώπινου Δυναμικού, Εκπαίδευση και Διά Βίου Μάθηση», στο πλαίσιο της Πράξης «Ενίσχυση του ανθρώπινου ερευνητικού δυναμικού μέσω της υλοποίησης διδακτορικής έρευνας» (MIS-5000432), που υλοποιεί το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών (ΙΚΥ).