

ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗΣ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΓΙΑ IN VIVO ΜΕΛΕΤΕΣ ΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΟΥΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΣΕ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΑ ΕΜΦΥΤΕΥΜΑΤΑ (STENT)

Η στεφανιαία νόσος είναι μία από τις παθήσεις που πλήττουν μεγάλο μέρος του ανθρώπινου πληθυσμού και θεωρείται από τις κορυφαίες αιτίες θανάτου στον ανεπτυγμένο κόσμο. Παρόλη τη προσπάθεια για τη θεραπεία και την αντιμετώπιση της μέσω των στεφανιαίων εμφυτευμάτων (stents), πολύ συχνά παρουσιάζονται επιπλοκές στον ασθενή με σημαντικότερη το πρόβλημα της επαναστένωσης. Μια από τις πιθανές αιτίες της επαναστένωσης ενδέχεται να είναι η μηχανική φθορά και διάβρωση που υφίστανται τα stents μετά την εμφύτευση τους στο αγγείο.

Προκειμένου να εξεταστεί η πιθανή σύνδεση μεταξύ της διάβρωσης του stent και της επαναστένωσης του αγγείου, χρησιμοποιούνται καινοτόμες τεχνικές in vivo απεικόνισης με σκοπό την αξιολόγηση της φλεγμονής που προκαλείται στο αγγείο. Συγκεκριμένα μελετάται η συσσώρευση ενεργοποιημένων μονοκυττάρων (μακροφάγων) στη θέση της εμφύτευσης του stent. Ο στόχος της παρούσας μελέτης είναι η ανάπτυξη in vitro τεχνικών για διαχωρισμό και απομόνωση μονοκυττάρων και της επισήμανσης τους με την κατάλληλη χρωστική ουσία, έτσι ώστε να μπορούν να διοχετευθούν και να ανιχνευθούν μέσα σε πειραματικά ποντίκια.

Η τεχνική απομόνωσης των μονοκυττάρων που περιλαμβάνει τον βέλτιστο δυνατό συνδυασμό όλων των παραγόντων και που τελικά κρίθηκε ως ιδανική μέθοδος, είναι ο συνδυασμός της μεθοδολογίας απομόνωσης μονοκυττάρων από αίμα με την χρήση συστήματος μαγνητικού αρνητικού διαχωρισμού και του διαλύματος πολυσακχαρίτη Histopaque-1077. Για την επισήμανση και ταυτοποίηση του πληθυσμού των απομονωμένων μονοκυττάρων, χρησιμοποιήθηκαν για επισήμανση τα φθορίζοντα αντισώματα CD115 και CD11b. Η επισήμανση των απομονωμένων κυττάρων με σκοπό την παρακολούθηση των μονοκυττάρων in vivo, πραγματοποιήθηκε επιτυχώς με τη χρήση της χρωστικής ουσίας φθορισμού Vybrant DiD.

Τα κύτταρα καταμετρήθηκαν με τη βοήθεια του αιματοκυτταρόμετρου και αφού έγινε η απομόνωση των μονοκυττάρων και η επισήμανση τους με χρωστικές ουσίες φθορισμού, καταμετρήθηκαν με τη χρήση της τεχνολογίας κυτταρομετρίας ροής,

μέσω της οποίας υπολογίστηκαν και τα ποσοστά των κύτταρων που είχαν επισημανθεί με τις ανάλογες χρωστικές ουσίες.

Συμπερασματικά, μέσω του πρωτόκολλου που έχει εξαχθεί για την απομόνωση των μονοκυττάρων από το αίμα δοτών ποντικών, το ποσοστό που απομονώνεται είναι ικανοποιητικό για περαιτέρω μελέτες και εφαρμογές *in vivo* και οι δείκτες αντισωμάτων που επιλέχθηκαν είναι κατάλληλοι, καθώς τα κύτταρα επισημαίνονται σε μεγάλο βαθμό. Η επισήμανση με την χρωστική ουσία φθορισμού που επιλέχθηκε έχει επιτύχει να αγγίζει το ποσοστό του 99.7%, γεγονός που αποδεικνύει ότι τα απομονωμένα κύτταρα είναι όντως ο ζητούμενος πληθυσμός των μονοκυττάρων.