

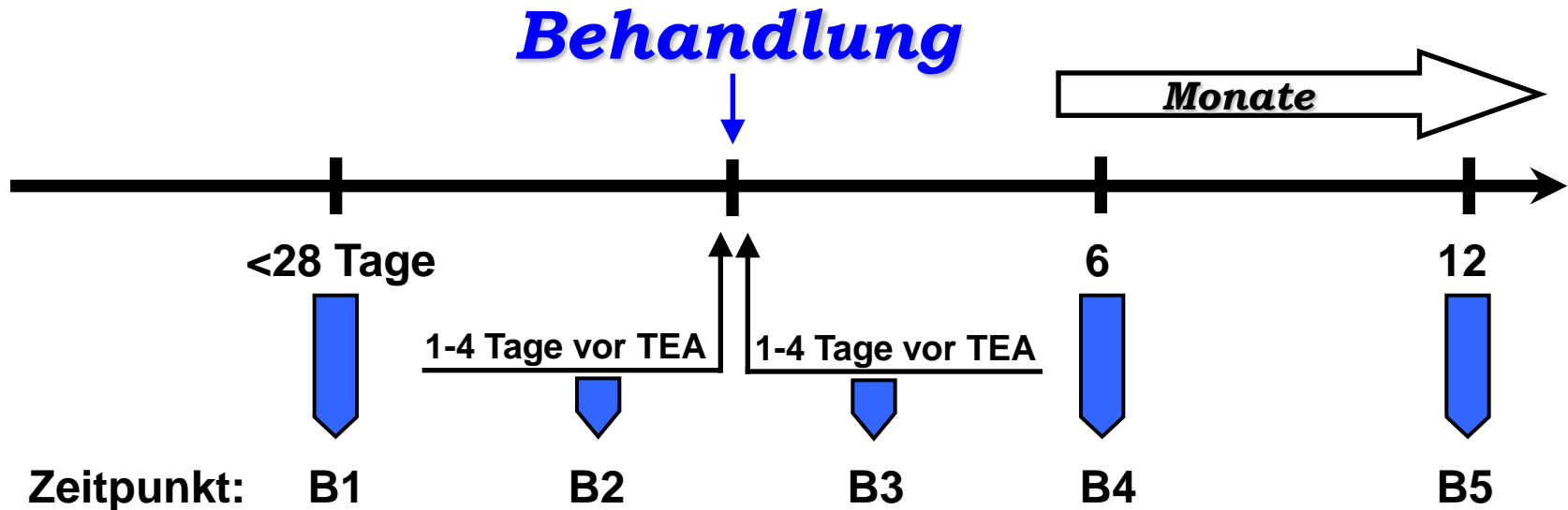
Klinik für Gefäßchirurgie

MÖGLICHKEITEN VON SUBSTUDIEN INNERHALB VON SPACE II

*Priv.-Doz. Dr.rer.nat. Jaroslav Pelisek
Leiter des Forschungslabors für Vaskuläre Biologie
Klinik für Gefäßchirurgie (Direktor: Univ.-Prof. H.H.-Eckstein)
Klinikum rechts der Isar der TU München
Ismaninger Str. 22
81675 München
Tel.: 089-4140-5168 / Fax.: -4961
E-Mail: J.Pelisek@lrz.tum.de, gefaesschirurgie@lrz.tum.de*

Vorgehensweise

1. Blutentnahme (ALLE DREI ARME):



2. TEA – Entnahme des Plaquegewebes (chirurgischer ARM)

Protokoll 1: Blutentnahme

1. Standardprozedur:

- 2 Rörchen (7,5mL S-Monovette Serum, Sarstedt)
- Blutentnahme
- **Blut ca. 15-30 min gerinnen lassen**
- **10 min bei 2000x g und 20°C abzentrifugieren**
- Überstand in 4x 1,5mL-Rörchen überführen
- bei -20°C (oder -70°C) einfrieren



2. Alternative A:

- Blutröhrchen einschicken (Klinische Chemie)

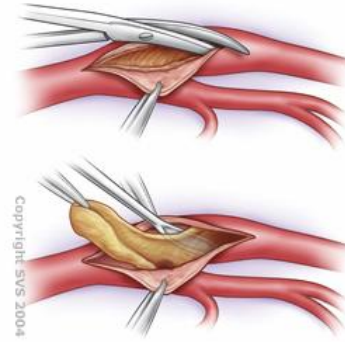
3. Alternative B:

- Blutröhrchen mit Gelatine verwenden
- Abzentrifugieren
- Einfrieren



Protokoll 2: Plaqueentnahme

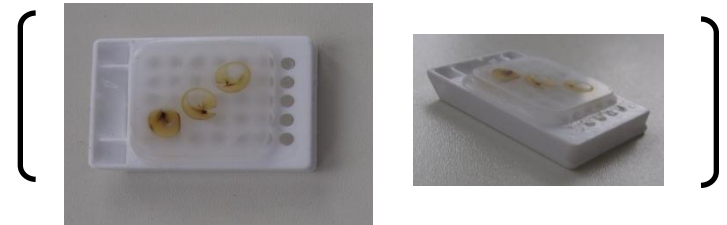
- TEA = Plaqueextraktion
- sofortige Überführung in 4% Formalin
- innerhalb 24 Stunden in 70% Ethanol überführen
- bei RT oder 4°C bis zur weiteren Bearbeitung lagern
- alternativ: in Pathologie weiter bearbeiten



4% Formalin üN



70% Ethanol



Möglichkeiten der Auswertung

- Blutanalyse
 - Biomarker (4-5mL Blutserum = 50-200 Faktoren)
 - Epigenetik (DNA-Methylierung)
- Plaqueanalyse
 - Immunhistochemie
 - RNA-Analyse (RT-PCR)
 - DNA-Analyse (Methylierung)

Vorteile der Studie und der Teilnahme ????

- hochrangige Publikationen für alle Beteiligten
- neue Erkenntnisse über Carotisstenose
- neue diagnostische und therapeutische Ansätze ?

Beispiele:

Framingham-Studie (1948-68):

- systematische Untersuchung der Bevölkerung einer Stadt auf Ursachen und Risiken der koronaren Herzkrankheit, Schlaganfall und Arteriosklerose.
- 5209 Teilnehmer zwischen 30 und 60 Jahren
- Die Ergebnisse – Risikofaktoren:
 - Cholesterin, Blutdruck und Blutzuckers, Zigarettenrauchen, Bewegungsmangel, Gewicht, ...
- Publikationen: bislang über 1000

Carotis ???

- NASCET (n=2885), ECST (n=3008), ACAS (n=1662), ACST (n>3000), SPACE I (n=1200)
(nur klinische Studien)
- Oxford plaque study (Rothwell, Redgrave: 526 sympt. Carotisstenosen)

bislang keine klinische Studie mit:

-KLINISCHEN DATEN + BLUTPROBEN + PLAQUEGEWEBE



SPACE II (n ≤ 3000) ????

Aufgaben der einzelnen Zentren

1. regelmäßige Blutentnahme (ALLE DREI ARME):

Zeitpunkte: **B1** (< -28T), **B2** (-(4-1)T), **B3** (+ (1-4)T), **B4** (+6M), **B5** (+12M)

2. TEA – Entnahme des Plaquegewebes (chirurgischer ARM)

Was brauche ich dazu ?

1. Stellungnahme der Ethikkommission (Ethikantrag für Blutentnahme)
2. Blutserumröhrchen (Sarstedt / 2x 7,5mL für jede Blutentnahme)
 - Standard-Serumröhrchen (50 Stk ... ~ 11,- €)
 - Serumröhrchen mit Gelatine (50 Stk ... ~ 15,- €)
3. Zentrifuge (Eppendorf 5804, für 15mL-Röhrchen)
4. Möglichkeit der Kühlagerung (-20°C oder -70°C)

Alternativ bei der Verwendung von Standard-Serumröhrchen:

- Reaktionsgefäße 1,5mL (1000 Stk ... ~30,- €)
- Pipette (1000mL)
- Pipettenspitzen (1000 Stk ... ~ 40,- €)



Faktoren, die bereits im Zusammenhang mit Progression und Rupturgefährdung von atherosklerotischen Läsionen beschrieben wurden:

Marker der Dysfunktion von ECs:	ICAM-1, VCAM-1, E-Selektin, P-Selektin
Proteinasen (Degradierung EM):	MMP-1,-2,-3,-7,-8,-9,-10,-11,-12,-13 / TIMP-1,-2 PAPP-A, t-PAI-1, uPAR (uPA)
Marker der Neovaskularisierung:	TGF β , PDGF (im Zusammenhang mit Reg. von MMP-Expression) VEGF, Ang-1 und -2, bFGF
Marker der Inflammation:	CRP, Fibrinogen, TNF- α , IL-1 β , -6, -8, -18 CD36, MCP-1, SAA, sCD40L (CD40/CD40L)
Oxidativer Stress:	Lp-PLA2, Homocystein, ADMA, MPO, oxLDL