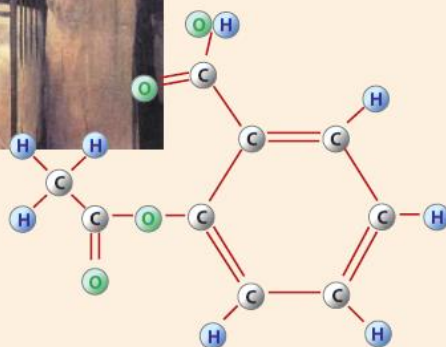


ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ Α. ΚΟΚΚΑΣ και ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Λ. ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ

# ΜΟΡΙΑΚΗ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΜΕ ΑΝΑΦΟΡΕΣ ΣΤΟ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ



Από την κλινική ιατρική ....



...στις μοριακές παρεμβάσεις



ΙΑΤΡΙΚΕΣ &  
ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ  
ΕΚΔΟΣΕΙΣ  
από το 1957



**ΜΟΡΙΑΚΗ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑ  
ΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΜΕ ΑΝΑΦΟΡΕΣ  
ΣΤΟ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ**



ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ Α. ΚΟΚΚΑΣ και ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Λ. ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ

**ΜΟΡΙΑΚΗ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑ  
ΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΜΕ ΑΝΑΦΟΡΕΣ  
ΣΤΟ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ**



ΙΑΤΡΙΚΕΣ & ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΚΔΟΣΕΙΣ

Θεσσαλονίκη 2006

© Βασίλειος Α. Κόκκας και Κωνσταντίνος Λ. Παπαδόπουλος  
© 2006, ΣΙΩΚΗΣ Ιατρικές & Επιστημονικές Εκδόσεις  
Δημήτριος Α. Σιώκης & Σία Ε.Ε.

Εικόνα εξωφύλλου: O R. Laennec (1771-1825) *Εξετάζων*  
Σχήμα εξωφύλλου: Ο χημικός τύπος της ασπιρίνης

ISBN: 960-7461-57-6

Κεντρική διάθεση

**Ιατρικά Βιβλιοπωλεία Σιώκης**

**Θεσσαλονίκη:** Αλεξ. Σβώλου 54, ΤΚ 54621

τηλ. 2310 230257, 287016, fax 2310 281014

**Αθήνα:** Φειδιππίδου 30, ΤΚ 11527, Αμπελόκηποι (Γουδή)

τηλ. 210 7470255, 7470253, fax 210 7713187

[www.sioakis.gr](http://www.sioakis.gr)

Απαγορεύεται η αναδημοσίευση, η αναπαραγωγή, ολική, μερική ή περιληπτική ή η απόδοση κατά παράφραση ή διασκευή του περιεχομένου του βιβλίου με οποιονδήποτε τρόπο, μηχανικό, ηλεκτρονικό, φωτοτυπικό, ηχογράφησης ή άλλο χωρίς προηγούμενη γραπτή άδεια του εκδότη σύμφωνα με το Νόμο 2121/1993 και τους κανόνες του Διεθνούς Δικαίου που ισχύουν στην Ελλάδα.

## ΠΕΡΙΧΟΜΕΝΑ

<i>Συγγραφείς</i> .....	<i>ix</i>
<i>Προλογικό Σημείωμα</i> .....	<i>xi</i>
1. Φλεγμονή και καρδιαγγειακά νοσήματα.....	1
2. Τα κύτταρα της φλεγμονής – Μοριακοί φαρμακολογικοί στόχοι στο επίπεδο της κυτταρικής μεμβράνης.....	19
3. Κυτταροκίνες και μεταγραφικοί παράγοντες της φλεγμονής Μοριακοί φαρμακολογικοί στόχοι.....	57
4. Αγγειοδραστικοί παράγοντες της φλεγμονής – Δυνατότητες φαρμακολογικών παρεμβάσεων σε μοριακό επίπεδο.....	93
5. Πορεία των λευκοκυττάρων προς την ιστική βλάβη κατά την εξέλιξη της φλεγμονής – Τα μόρια προσκόλλησης και οι φαγοκυτταρικοί μηχανισμοί ως φαρμακολογικοί στόχοι.....	135
6. Σχέσεις μηχανισμών φλεγμονής και πήξης του αίματος Φαρμακολογικοί στόχοι.....	183
7. Σχέσεις φλεγμονωδών και αθηρωματικών μηχανισμών Ο ρόλος των υποδοχέων PPARs.....	217
8. Κυτταροκίνες και καρδιακή ανεπάρκεια – Φαρμακολογικοί στόχοι.....	263





**ΣΥΓΓΡΑΦΕΙΣ**

Κωνσταντίνος Α. Παπαδόπουλος  
Καθηγητής Καρδιολογίας,  
Διευθυντής της Β΄ Καρδιολογικής Κλινικής,  
Ιατρική Σχολή Α.Π.Θ.

Βασίλειος Α. Κόκκας  
Καθηγητής Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή Α.Π.Θ.

Αντώνιος Γούλας  
Λέκτορας Φαρμακολογίας, Ιατρική Σχολή Α.Π.Θ.

Ανδρέας Β. Κόκκας  
Χειρουργός-Οδοντίατρος, μετεκπαιδευθείς στην Ενδοδοντία,  
υποψήφιος διδάκτορας Τμήματος Οδοντιατρικής Α.Π.Θ.

Παύλος Κ. Παπαδόπουλος  
Ιατρός- ειδικευόμενος στην Καρδιολογία, διδάκτορας Ιατρικής Δ.Π.Θ.

Ελένη Γ. Μπασιλή  
Ιατρός- ειδικευόμενη στην Οφθαλμολογία, υποψήφια διδάκτορας  
Ιατρικής Α.Π.Θ.

Παρασκευή Β. Κόκκα  
Ιατρός- ειδικευόμενη στην Παιδιατρική,  
υποψήφια διδάκτορας Ιατρικής Α.Π.Θ.

Γεωργία Ν. Τσίντα  
Κτηνίατρος, υποψήφια διδάκτορας Ιατρικής Α.Π.Θ.



## ΠΡΟΛΟΓΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Τα κεφάλαια του ανά χείρας πονήματος αναφέρονται άλλα έμμεσα και άλλα άμεσα στις φλεγμονές που αφορούν το καρδιαγγειακό σύστημα. Στόχος είναι να μπορέσει ο αναγνώστης να κατανοήσει τους λεπτούς και πολύπλοκους μοριακούς μηχανισμούς οι οποίοι αναπτύσσονται κατά τις διάφορες φάσεις εξέλιξης μιας φλεγμονής, καθώς επίσης και τους μηχανισμούς με τους οποίους τα διάφορα φάρμακα παρεμβαίνουν και επηρεάζουν τη φλεγμονή. Καθώς οι μοριακοί αυτοί μηχανισμοί γίνονται όλο και πιο κατανοητοί, αποκαλύπτονται στόχοι οι οποίοι αποτελούν αντικείμενο έρευνας για μελλοντικές φαρμακολογικές παρεμβάσεις. Ως εκ τούτου, η προσπάθειά μας στρέφεται και προς την ενημέρωση για ό,τι συμβαίνει σήμερα στο πεδίο αυτό.

Ορισμένα από τα κεφάλαια αυτά έχουν δημοσιευθεί σε συνοπτικότερη μορφή στο περιοδικό *Επιθεώρηση Κλινικής Φαρμακολογίας και Φαρμακοκινητικής*. Στην παρούσα έκδοση, η παρουσίαση είναι αναλυτικότερη, περιλαμβάνει όλα τα νεότερα δεδομένα και είναι εμπλουτισμένη με 100 περίπου εικόνες και σχήματα από τη διεθνή βιβλιογραφία, με αναφορά στην προέλευση του καθενός. Ορισμένες από τις εικόνες του όγδοου κεφαλαίου προέρχονται από την εργασία του συναδέλφου φοιτητή της Ιατρικής Δ. Γιαννακίδη την οποία κατέθεσε για το μάθημα της Μοριακής Φαρμακολογίας. Ως Πανεπιστημιακοί δάσκαλοι νομίζουμε ότι πρέπει να επιβραβεύονται ανάλογες αξιόλογες προσπάθειες.

Ευχαριστούμε θερμά τη φαρμακευτική εταιρία BIANEΞ η οποία στα πλαίσια της πολύχρονης συνεργασίας μας δέχθηκε ευγενικά να καλύψει την οικονομική δαπάνη της έκδοσης αυτής, ιδιαίτερα δε τον κ. Α. Χατζηπέτρου, Γενικό Διευθυντή της εταιρείας, για το θερμό ενδιαφέρον του και τη θετική εισήγησή του. Ευχαριστούμε επίσης τον εκδοτικό οίκο «Ιατρικές & Επιστημονικές Εκδόσεις Σιώκης» που έφερε εις πέρας μία άρτια και επιμελημένη έκδοση.

Θεσσαλονίκη, Ιανουάριος 2006



Β. Α. Κόκκας  
Καθηγητής Φαρμακολογίας  
στην Ιατρική Σχολή του Α.Π.Θ.



Κ. Λ. Παπαδόπουλος  
Καθηγητής Καρδιολογίας  
Διευθυντής της Β΄ Καρδιολογικής  
Κλινικής της Ιατρικής Σχολής του Α.Π.Θ.



## Φλεγμονή και καρδιαγγειακά νοσήματα

Κ.Λ. Παπαδόπουλος  
Β' Καρδιολογική Κλινική Α.Π.Θ.  
Ιατρική Σχολή Α.Π.Θ.

### περίληψη

*Παρουσιάζονται συνοπτικά οι μηχανισμοί που συνδέουν τη φλεγμονή με καρδιαγγειακές παθήσεις και ιδιαίτερα με την αθηροσκληρωτική νόσο και την καρδιακή ανεπάρκεια.*

### εισαγωγή

Το ανα χείρας πόνημα αποσκοπεί στο να ενημερώσει τον αναγνώστη για τις τρέχουσες απόψεις σχετικά με τα κυριότερα θέματα της μοριακής βιολογίας της φλεγμονής σε συνάρτηση με καρδιαγγειακές παθήσεις. Είναι φυσικό ότι δεν εξαντλεί το σύνολο του φάσματος των εν λόγω παθήσεων, καλύπτει όμως την αθηροσκληρωτική νόσο και την καρδιακή ανεπάρκεια που αποτελούν τις συνηθέστερα απαντώμενες καταστάσεις. Το παρόν εισαγωγικό άρθρο παρουσιάζει συνοπτικά την σπονδυλική στήλη των μηχανισμών που συνδέουν την φλεγμονή με τις υπό συζήτηση παθήσεις με ενδεικτικές από τις βασικές βιβλιογραφικές αναφορές. Λεπτομερής ανάπτυξη των θεμελιωδών μηχανισμών και της ιστορίας της εξελίξεως των αντιλήψεων ανευρίσκεται σε εξαιρέτα συγγράμματα (1,2,4,5).

Η αθηροσκληρωτική νόσος κατέχει τα πρωτεία του ενδιαφέροντος λόγω της ευρείας εκτάσεώς της στο σώμα του μεγάλου επιπολασμού στους πληθυσμούς και της υψηλής νοσηρότητας και θνητότητας.

Η έρευνα της παθογένειας της αθηρογενέσεως διήλθε διάφορα στάδια και ποικίλες απόψεις διατυπώθηκαν για τους μηχανισμούς της. Τρεις είναι οι κύριες θεωρίες που διαμορφώθηκαν: α) η διηθητική (των λιποπρωτεϊνών), β) η θρομβωτική και γ) η φλεγμονογενής.

Ήδη ο R. Virchow (6) επεσήμανε τον ρόλο που διαδραματίζουν τα λιποειδή στην ανάπτυξη της αθηροσκληρώσεως, οι δε Weitzel και συν.(1956) (7) όρισαν ως αρτηριοσκλήρωση την παθολογική άθροιση λίπους στα αγγειακά τοιχώματα. Η θεωρία της **διηθήσεως λιποειδών** δέχεται ότι το αρτηριακό ενδοθήλιο και όλο το τοίχωμα είναι διαπερατά από μακρομόρια. Την

σημασία της διηθήσεως με χοληστερόλη υπέδειξαν στις αρχές του 20ου αιώνα οι Saltykow (8,9), Anitschkow και Chalatov (9,10), απεδείχθη δε τούτο με την χρήση ραδιοσημασμένων λιποπρωτεϊνών και πρωτεϊνών και δημοσιεύθηκε από το 1962 από τους Christensen (11), Duncan και Buck (12), Newman και Zilvermit (13), ολίγον δε αργότερα από τους Davis και συν. (14) και Duncan και συν. (1963) (15). Με τις μελέτες αυτές απεδείχθη φθίνουσα βαθμίδωση στην συγκέντρωση λιποπρωτεϊνών από τις εσωτερικές προς τις εξωτερικές στιβάδες των αρτηριακών τοιχωμάτων και διαφορική κατακράτηση επί μέρους συστατικών. Ο ρόλος των λιποπρωτεϊνών LDL ως κατ' εξοχήν αθηρογόνου υλικού είναι πλέον αδιαμφισβήτητος (16).

Ο Von Rokitansky το 1844 (17) εθεώρησε την τοιχωματική θρόμβωση ως παθογενετικό παράγοντα της αρτηριοσκλήρωσεως, ο δε Duguid (1948, 1955) (18-21) επεξεργάσθηκε και διετύπωσε την θρομβογενετική θεωρία της αθηρωματώσεως διαστέλλοντας την τελευταία από άλλες μορφές αρτηριοσκλήρωσεως και την κατέστησε ευρέως αποδεκτή. Κατά την θεωρία αυτή, διαδοχικοί (στιβαδωτοί) τοιχωματικοί θρόμβοι οργανώνονται και ενσωματώνονται στην αθηρωματική πλάκα (22-28). Ο Mallory επανέφερε την θρομβογενετική θεωρία στις αρχές του 20ου αιώνα (29). Οι δε Clark και συν. παρατήρησαν μεταβολικές μορφές μεταξύ τοιχωματικών θρόμβων και αθηρωματικών πλακών (30). Ο Mustard προέβη σε εκτεταμένη επεξεργασία της θεωρίας (31,32).

Με την εξέλιξη των γνώσεων, **η φλεγμονή**, από συνοδός διεργασία αποσκοπούσα στην αποικοδόμηση των βλαπτομένων και νεκρωμένων ιστών αναδεικνύεται σε ισότιμο παθογενετικό μηχανισμό προς τους άλλους δύο, συναπαρτίζοντας μαζί τους μία αδιαίρετη τριλογία. Η θεωρία της φλεγμονογενούς αθηροσκλήρωσεως διατυπώθηκε από τον Virchow (6) που την θεώρησε ως αποτέλεσμα εκφυλίσεως κατόπιν φλεγμονής του έσω χιτώνος. Ο Riblert (1904) την υπεστήριξε με μορφολογικές παρατηρήσεις (33). Η ορώδης φλεγμονή προτάθηκε από τον Rossle (34) την δεκαετία του 1930 και τροποποιήθηκε από τον Daerr (35,36). Από το 1941 ο Leary (37) είχε ήδη αποδείξει ότι κυκλοφορούντα μακροφάγα μπορούν να καταστούν συστατικά του αθηρώματος. Η θεωρία της φλεγμονογενούς προελεύσεως της αθηροσκλήρωσεως κερδίζει αλματωδώς έδαφος κατά την τελευταία δεκαετία. Σήμερα οι τρεις θεωρίες θεωρούνται ισότιμες και οι μηχανισμοί τους οποίους εκάστη υποδεικνύει φαίνεται ότι ενεργούν συνεργικώς.

Η φλεγμονή υπό διάφορες μορφές υπάρχει ως συνοδός ή ως κυριαρχούσα διαδικασία σε διάφορες καρδιαγγειακές νόσους. Ο έλεγχος της φλεγμονής είναι αυτονόητο ότι επηρεάζει την εξέλιξη και έκβαση των νοσημάτων αυτών. Εντεύθεν προκύπτει το ζωνρό ενδιαφέρον για την ενδελεχή μελέτη σε μοριακό επίπεδο των διεργασιών της φλεγμονής και την έρευνα των παραγόντων που τροποποιούν και ελέγχουν αυτές.

Κατά την αθηρογένεση, η μετανάστευση μονοπύρηνων λευκοκυττάρων από το αίμα στον έσω αρτηριακό χιτώνα αποτελεί μια διαδικασία κλειδί για την έναρξη και την πορεία της. Η επιστράτευση των λευκοκυττάρων διαμεσολαβείται από φλεγμονώδεις και ανοσοβιολογικές διαδικασίες. Τα μονοκύτταρα προσκολλώνται στο ενδοθήλιο σε θέσεις που είναι επιρρεπείς για την μελλοντική ανάπτυξη αθηροσκληρωτικών βλαβών (38,39) και έχουν ήδη διηθηθεί από LDL κατόπιν επαγωγής συνθέσεως μορίων προσκολλησεως στο αρτηριακό ενδοθήλιο υπό των βλαπτικών παραγόντων, όχι μόνο ποσοτικώς αλλά και ποιοτικώς διαφόρων των υπαρχόντων σε ηρεμία (40-44). Τα μονοκύτταρα διηθούν τον υπενδοθηλιακό χώρο, ενεργοποιούνται από συνδιηθούμενους και εξαλλοιούμενους χυμικούς παράγοντες (όπως οι LDL), εκκρίνουν διάφορους παράγοντες που επιτείνουν τις διαδικασίες και πολλαπλασιάζονται (45,46). Κανονικώς αναμένεται, αφού προσλάβουν επαρκή ποσότητα LDL, να διαφεύγουν εκ νέου, συμβάλλοντας έτσι στην κάθαρση του υπενδοθηλιακού χώρου και στην προστασία του ιστού από τις συνέπειες της αντιδράσεως με εξαλλοιωμένες λιποπρωτεΐνες (47,48). Όταν όμως ο ρυθμός προσαγωγής LDL είναι υψηλός και οι άλλοι τοπικοί βλαπτικοί παράγοντες έντονοι, η διαφυγή των μονοκυττάρων αναστέλλεται, μετατρέπονται δε σε αφρώδη κύτταρα (50,51). Ταυτόχρονα, με την έκκριση κυτταροκινών, προσελκύουν λεία μυϊκά κύτταρα εκ των έσω στιβάδων του έσω χιτώνα, τα οποία αποδιαφοροποιούνται, και μετά την μετανάστευση, στον έσω χιτώνα, αποκτούν ιδιότητες μακροφάγων μετατρέπόμενα επίσης σε αφρώδη κύτταρα (52-58). Η νέκρωση των αφρώδων κυττάρων δημιουργεί τον νεκρωτικό πυρήνα της αθηροσκληρωτικής πλάκας. Ο σχηματισμός υπενδοθηλιακής ινώδους κάψας εμποδίζει περαιτέρω την διαφυγή μακροφάγων.

Κυτταροκίνες εκκρινόμενες από τα μακροφάγα τροποποιούν επί το δυσμενέστερο την λειτουργία των ενδοθηλιακών κυττάρων και προσελκύουν περισσότερα μακροφάγα (48). Μεταξύ άλλων λειτουργιών στις οποίες συμμετέχουν τα μακροφάγα, ταύτα χρησιμεύουν ως αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (δενδριτικά κύτταρα) στα ώριμα T-λεμφοκύτταρα, παρουσιάζοντας στα τελευταία αντιγόνα εξαλλοιωμένων LDL. Στο καθεστώς της κυριαρχίας διαφόρων φλεγμονογόνων κυτταροκινών, η παρουσίαση των αντιγόνων κινητοποιεί μηχανισμούς (αυτο)ανοσίας και προάγει την προσθήκη ανοσοβιολογικών μηχανισμών στην αθηρογένεση (3,59-72). Αντίθετα επί ελλείψεως κυτταροκινών φλεγμονής, η παρουσίαση του αντιγόνου δεν συνοδεύεται από συμπαρουσίαση ορισμένων απαραίτητων οδωτικών παραγόντων και δημιουργείται ανοχή λόγω διαφορετικής αντιλήψεως από το T-λεμφοκύτταρο. Με τον τρόπο αυτό φαίνεται ότι διασυνδέονται οι φλεγμονώδεις με τους ανοσοβιολογικούς μηχανισμούς στην παθογένεια της αθηροσκληρώσεως (59). Σε ώριμες αθηροσκληρωτικές πλάκες αναπτύσσεται περιαρτηριακή

ανοσοβιολογική φλεγμονή εναντίον των διηθουμένων εξαλλοιωμένων LDL (73,74).

Εις την περίμετρο των αθηροσκληρωτικών πλακών, όπου το πάχος της ινώδους κάψας είναι ελάχιστο, όταν οι πλάκες περιέχουν ευμεγέθη ημίρρευστο νεκρωτικό πυρήνα και λεπτή ινώδη κάψα, είναι δυνατόν να συμβεί ρήξη της κάψας υπό την επίδραση εντόνων μηχανικών παραγόντων όπως η αιφνιδία αύξηση του εύρους σφυγμού υπό την επίδραση εξάρσεως του τόνου του συμπαθητικού· ιδιαίτερως ευχερής είναι η ρήξη αν τα αφθονούνται στην περιοχή μακροφάγα υπό την επίδραση των βλαπτικών χυμικών παραγόντων του περιβάλλοντος προβούν σε έκκριση πρωτεολυτικών ενζύμων (μεταλλοπρωτεϊνάσες) που διαβρώνουν τον καλύπτοντα συνδετικό ιστό (75-89). Επί της αποκαλυπτομένης ελκωτικής περιοχής σχηματίζεται θρόμβος από συσσωρευση αιμοπεταλίων και κινητοποίηση του πηκτικού μηχανισμού. Το μέγεθος του θρόμβου και το ενδεχόμενο πλήρους αποφράξεως της αρτηρίας θα κριθούν από την διαδικασία της ινωδολύσεως (88-91). Τα αιμοπετάλια ενεργοποιούμενα από μηχανικούς (υψηλή τάση διασχίσεως) και χυμικούς (αθηρογόνους, φλεγμονώδεις, ορμονικούς και άλλους) παράγοντες έχουν την ικανότητα να προσκολλώνται και επί ακεραίων αλλά δυσλειτουργικών ενδοθηλιακών κυττάρων, με την έκκριση δε πλειάδας παραγόντων να συμπεριφέρονται ως φλεγμονογόνα κύτταρα (94,95)· υπό την επίδραση αθηρογόνων παραγόντων η προενεργοποίηση των αιμοπεταλίων είναι έντονη, ενώ η παράλληλη ενδοθηλιακή δυσλειτουργία επάγει θρομβωτικούς μηχανισμούς και εξασθενεί σε ποικίλλοντα βαθμό την αντιαιμοπεταλιακή και ινωδολυτική ικανότητα (94,96).

Μετά την προσπάθεια επεμβατικής αναπλάσεως του αυλού της εστενωμένης ή προσφάτως αποφραχθείσας στεφανιαίας αρτηρίας (αγγειοπλαστική) ακολουθεί άλλοτε άλλου βαθμού επαναστένωση του αγγείου που οφείλεται σε υπερπλασία των λείων μυϊκών ινών (97). Η τάση για υπερπλασία είναι ιδιαίτερως έντονη στις λείες μυϊκές ίνες που υπέστησαν μηχανική πρόκληση, διεβίωσαν υπό την επίδραση των χυμικών παραγόντων που κυριαρχούσαν στην αθηρωσκληρωτική πλάκα και εδέχθησαν τις επιδράσεις φλεγμονογόνων παραγόντων (98,99)· η επίδραση των αιμοπεταλιακών παραγόντων, εκτός της περιπτώσεως οξείας θρομβώσεως, δεν είναι κυριαρχική κατά την έναρξη της διαδικασίας επαναστενώσεως, αφού η διαδικασία επιτελείται και σε θρομβοκυττοπενικά πειραματόζωα, καθίσταται όμως αποφασιστική σε μεταγενέστερο στάδιο. Κατά το ακολουθούν χρόνιο στάδιο φαίνεται ότι την ισχυρότερη οδωτική δράση εξασκεί η υπερπαραγομένη τοπικώς Αγγειοτασίνη II, χωρίς όμως η αναστολή του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτασίνης (ΜΕΑ) να επαρκεί για την πρόληψη του φαινομένου εκ διαφόρων λόγων, όπως η ύπαρξη πολλαπλών παραλλήλων δευτερευουσών οδών μη



αναστελλομένων (100). Τέλος, μετά την επανενδοθηλίωση είναι δυνατή η νέα έξαρση στενωτικής διεργασίας που φαίνεται ότι αντιστοιχεί σε τυπική αθηροσκληρωτική τοιαύτη.

Η ανεύρεση στο αίμα δεικτών φλεγμονής αποτελεί δυσμενή προγνωστικό δείκτη για ανάπτυξη αθηροσκληρώσεως και εμφάνιση οξέων αγγειακών επεισοδίων, αφού δείχνει την κυκλοφορία παραγόντων ή προϊόντων φλεγμονής, των οποίων παραμένει άγνωστη η προέλευση (εκ των υπαιτίων θεωρείται και ο άφθονος κορμοκοιλιακός λιπώδης ιστός κατά το δυσμεταβολικό σύνδρομο), η σημασία όμως συνίσταται στην ικανότητα να ενεργοποιούν και να συντηρούν υποκλινικές φλεγμονώδεις διαδικασίες, όπως οι ευθυνόμενες για την αθηροσκλήρωση και τις επιπλοκές της.

Κατά την διαδρομή των οξέων ισχαιμικών επεισοδίων έχει αποδοθεί στα λευκοκύτταρα κεντρικός ρόλος για την πρόσκληση ιστικών βλαβών (47,101,102): αυτά προσελκύονται από συνεργικώς δρώσες κυτταροκίνες που συντίθενται και εκλύονται κατά την διάρκεια της υποξίας και προκαλούν την έκφραση και εξωτερίκευση μορίων προσκολλησίσεως επί των ενδοθηλίων. Η επιστράτευση των πολυμορφοπυρήνων στο ισχαιμικό και το επαναιματούμενο μυοκάρδιο συμβαίνει σε διάφορες φάσεις, που ελέγχονται κυρίως από αντιδράσεις με τα ενδοθήλια (103,104). Τα κυκλοφορούντα ουδετερόφιλα που εντοπίζονται σε ισχαιμικές και επαναιματούμενες αγγειακές περιοχές, αρχικά προσκολλώνται σε ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα επί των οποίων κυλίνονται επιβραδυνόμενα μέχρις ότου προσκολληθούν ισχυρότερα, με την συμβολή διαφόρων μορίων, περιλαμβανομένων του παράγοντα ενεργοποίησεως αιμοπεταλίων, ειδικών χημειοτακτικών παραγόντων όπως ιντερλευκίνη IL-8 που επιπλέον τα ενεργοποιεί, καθώς και στοιχείων του ενεργοποιημένου συμπληρώματος (105,106). Η προσκόλλησή ουδετεροφίλων επί του ενδοθηλίου κατά την επαναιμάτωση, σε συνδυασμό με το ενδοθηλιακό οίδημα και τις θρομβωτικές διαδικασίες προκαλούν το φαινόμενο της μη επαναρδέσεως (no-reflow phenomenon) που ενίοτε εμφανίζεται παρά την άρση της αποφράξεως της στεφανιαίας αρτηρίας.

Τα εκτιθέμενα σε υποξία ενδοθηλιακά κύτταρα συνθέτουν ιντερλευκίνη IL-1 σε επίπεδα προοδευτικώς αυξανόμενα, όσο παρατείνεται η υποξία (107-110). Εάν επισυμβεί άρση της ισχαιμίας, μονοκύτταρα υφιστάμενα επανοξυγόνωση, τα οποία αφθονούν στο ισχαιμικό μυοκάρδιο, συνθέτουν και απελευθερώνουν ωσαύτως IL-1. Οι παράγοντες αυτοί προκαλούν κλιμάκωση της διηθήσεως με κύτταρα φλεγμονής μεταξύ των οποίων και πολυμορφοπύρηνα, των οποίων η διέγερσις συμβάλλει στην περαιτέρω χημειοσταξία. Τα ουδετερόφιλα διαδραματίζουν κεφαλαιώδη ρόλο στην ιστική καρδιακή βλάβη που συμβαίνει κατά την επαναιμάτωση (111-122). Τα ουδετερόφιλα είναι τοξικά για τους ιστούς τους οποίους διηθούν επιστρατευόμενα κατά

την διαδικασία ισχαιμίας – επαναιματώσεως – απελευθερώνουν πλήθος λυσοσωμιακών ενζύμων, διεγχειρόμενα δε από διάφορες κυτταροκίνες και χημειοτακτικούς παράγοντες υφίστανται αναπνευστική έκρηξη (respiratory burst) που οδηγεί σε αιφνίδια αθρόα έκλυση τοξικών οξειδωτικών ελευθέρων ριζών. Μελέτες σε πειραματόζωα απέδειξαν ότι η προ της ισχαιμίας – επαναιματώσεως αφαίρεση των ουδετεροφίλων ή η παρακώλυση της προσκολλησεώς τους στα ενδοθήλια περιορίζουν την έκταση του πειραματικού εμφράγματος.

Κατά την πρώτη φάση του εμφράγματος του μυοκαρδίου μέχρι την 4<sup>η</sup> ώρα από της στεφανιαίας θρομβώσεως, που περιγράφεται ως οξεία ισχαιμία, το βιώσιμο μυοκάρδιο που περιβάλλει το έμφρακτο μυοκάρδιο παρουσιάζει διεύρυνση των φλεβιδίων, συσσώρευση ουδετεροφίλων εντός αυτών και αρχόμενη διείσδυση των τελευταίων προς το έμφρακτο.

Η δεύτερη φάση, της ηχητικής νεκρώσεως, διαρκούσα από της 4<sup>ης</sup> μέχρι της 48<sup>ης</sup> ώρας, χαρακτηρίζεται από έντονη περιφερειακή φλεγμονώδη διήθηση από ουδετερόφιλα τα οποία αποκοκκιάονται και αποσυντίθενται εντός ολίγων ωρών. Τα ένζυμά τους διαλύουν τα παρακείμενα μυοκαρδιακά κύτταρα και την μεσοκυττάρια ουσία. Σε μεγάλης εκτάσεως έμφρακτα η πολυμορφοπυρηνική διήθηση δεν φθάνει μέχρι του κέντρου του εμφράκτου, το οποίο –μη προσβαλλόμενο από τα πολυμορφοπύρηνια– αποικοδομείται από τα μακροφάγα κατά τις επακόλουθες εβδομάδες ή μήνες.

Τα μακροφάγα αντικαθιστούν βαθμιαία τα ουδετερόφιλα και αποτελούν τον επικρατούντα φλεγμονώδη κυτταρικό πληθυσμό μετά τις 72 ώρες, οπότε αρχίζει η τρίτη φάση, της επολώσεως. Στο στάδιο αυτό το μυοκάρδιο που περιβάλλει το έμφρακτο παρουσιάζει οίδημα, διάταση των φλεβιδίων και διήθηση από μονοπύρηνια, T-λεμφοκύτταρα και πλασματοκύτταρα. Η εικόνα αυτή είναι πλήρως ανεπτυγμένη από της 96<sup>ης</sup> ώρας, οπότε έχουν εξαφανισθεί τα υπολείμματα των πολυμορφοπυρηνίων. Κατά την τρίτη φάση, της επολώσεως, η διείσδυση των μακροφάγων ακολουθείται από ινοβλάστες και νεόπλαστα τριχοειδή που συνιστούν κοκκιώδη ιστό.

Κατά την τέταρτη φάση, της χρονίας ουλοποιήσεως, που ακολουθεί μετά από εβδομάδες, ο προελαύνων κοκκιώδης ιστός αντικαθίσταται από πυκνό ινώδη συνδετικό ιστό.

Η καρδιακή ανεπάρκεια αποτελεί μία των εκβάσεων τόσο της ισχαιμικής που είναι συνηθέστερη όσο και διαφόρων μη ισχαιμικών καρδιοπαθειών. Κατά την καρδιακή ανεπάρκεια, ανεξαρτήτως αιτιολογίας, τόσο στο λανθάνον και το αντιρροπούμενο στάδιο όσο και στην έκδηλη τοιαύτη, κινητοποιούνται νευρικοί, ορμονικοί και άλλοι χυμικοί μηχανισμοί, η ανάπτυξη των οποίων εκφεύγει των ορίων του παρόντος κεφαλαίου. Σκοπός τους είναι η βραχυπρόθεσμη αντιμετώπιση της καρδιακής ανεπάρκειας. Παρατεινόμενου όμως του αιτίου της καρδιακής ανεπάρκειας, μετά από την μετρίως ή

πλήρως λυσιτελή αρχική αντιμετώπισή της από τον οργανισμό, η παρατεταμένη και ενδεχομένως καταχρηστική σε ένταση δραστηριότητα των εν λόγω μηχανισμών εξασκεί ολέθρια αποτελέσματα στην λειτουργία και δομή του μυοκαρδίου θέτοντας την καρδιακή ανεπάρκεια εκτός δυνατότητας ελέγχου (123-125).

Μεταξύ των παραπάνω χυμικών παραγόντων, το παρόν κείμενο ενδιαφέρουν οι φλεγμονογόνες κυτταροκίνες. Ενώ οι τελευταίες παραδοσιακά εθεωρούντο προϊόντα του ανοσοποιητικού συστήματος, οι πρόσφατες παρατηρήσεις έδειξαν ότι όλοι σχεδόν οι τύποι εμπύρηνων κυττάρων που απαντούν στο μυοκάρδιο, περιλαμβανομένων των μυοκυττάρων, έχουν την δυνατότητα να συνθέτουν ευρύ φάσμα εξ αυτών σε ανταπόκριση έναντι διαφόρων βλαπτικών επιδράσεων. Η έκφραση των κυτταροκινών σε ανταπόκριση έναντι κακοποίησης (stress) είναι δυνατή με πλήρη απουσία ενεργοποίησης του ανοσοποιητικού συστήματος (126). Επί καρδιακής ανεπάρκειας ισχαιμικής αιτιολογίας ή λόγω μηχανικής υπερφορτίσεως (π.χ. υπέρταση, βαλβιδοπάθειες) οι φλεγμονογόνες κυτταροκίνες εκλύονται ως αποτέλεσμα της καρδιακής ανεπάρκειας. Σε άλλες όμως καταστάσεις όπου λοίμωξη ή φλεγμονή του μυοκαρδίου οδήγησε σε καρδιακή ανεπάρκεια, οι εν λόγω κυτταροκίνες υποκινούνται τόσο από την αρχική φλεγμονή όσο και από την επαγόμενη καρδιακή ανεπάρκεια. Τα αποτελέσματα της τοπικής και συστηματικής δράσεως των κυτταροκινών ευθύνονται όχι μόνο για την επιδείνωση της μυοκαρδιακής δυσλειτουργίας αλλά και για την συστηματική καταβολική κατάσταση του συνόλου οργανισμού. Το θέμα είναι αντικείμενο ειδικού κεφαλαίου.

Στα ακολουθούντα κεφάλαια επιχειρείται η προσέγγιση σε επίπεδο μοριακής βιολογίας των κυριότερων από τους μηχανισμούς που εμπλέκονται στα αναφερθέντα φαινόμενα. Το ανά χείρας πόνημα περιλαμβάνει 8 κεφάλαια.

Μετά το παρόν *εισαγωγικό κεφάλαιο* ακολουθούν τα εξής:

*Τα κύτταρα της φλεγμονής.* Περιγράφονται τα είδη των συμμετεχόντων κυττάρων και οι επί μέρους ρόλοι τους, η ανοσιακή απόκριση, οι υποδοχείς στην κυτταρική μεμβράνη και οι παράγοντες που ελέγχουν τις αποκρίσεις και, τέλος, οι φαρμακολογικοί στόχοι στο επίπεδο αυτό.

*Κυτταροκίνες και μεταγραφικοί παράγοντες της φλεγμονής.* Παρουσιάζονται οι κυριότερες κυτταροκίνες, οι υποδοχείς τους και οι λειτουργίες που επιτελούν ακολουθεί η περιγραφή των μεταγραφικών παραγόντων και των λειτουργιών τους και, τέλος, συζητούνται οι φαρμακολογικοί στόχοι.

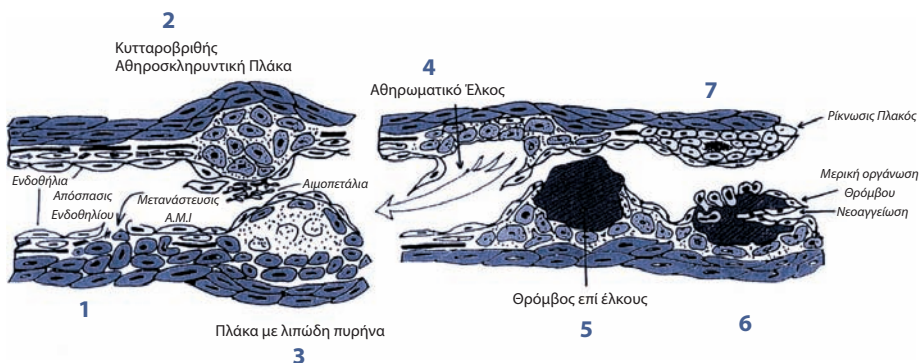
*Αγγειοδραστικοί παράγοντες της φλεγμονής.* Περιγράφονται οι αγγειοδραστικές ουσίες που εκλύονται κατά τον τραυματισμό των ιστών από βλαπτικούς παράγοντες, οι φάσεις εκλύσεώς τους και οι λειτουργίες τους, καθώς και οι επιτυγχανόμενες φαρμακολογικές παρεμβάσεις.

*Πορεία των λευκοκυττάρων προς την ιστική βλάβη.* Αναπτύσσονται οι μηχανισμοί χημειοταξίας προς την εστία της φλεγμονής, ο ρόλος των μορίων προσκολλησεως, οι μηχανισμοί διήθησης των φλεγμονωδών κυττάρων και οι λειτουργίες τους στην θέση της φλεγμονής, καθώς και οι δυνατότητες φαρμακολογικής παρεμβάσεως.

*Σχέση μηχανισμών φλεγμονής και πήξης του αίματος.* Περιγράφονται ο σύνθετος ρόλος των αιμοπεταλίων, οι παράγοντες πήξεως του αίματος, η σημασία ανοσιακών παραγόντων και οι υποδοχείς PARs. Τέλος, ανασκοπούνται οι φαρμακολογικές παρεμβάσεις.

*Σχέσεις φλεγμονωδών και αθηρωματικών μηχανισμών.* Αναπτύσσονται οι μηχανισμοί αντιδράσεως των LDL με τα φλεγμονώδη κύτταρα που οδηγούν στην έναρξη των διαδικασιών αθηροσκλήρωσεως και ο ρόλος των υποδοχέων PPARs στις λειτουργίες των εμπλεκόμενων κυττάρων. Τέλος, παρουσιάζονται οι στόχοι και οι δυνατότητες φαρμακολογικών παρεμβάσεων στις οποίες σήμερα στηρίζεται ο κορμός της αθηροσκληρωτικής νόσου.

*Κυτταροκίνες και καρδιακή ανεπάρκεια.* Αναπτύσσονται οι νεότερες αντιλήψεις σύμφωνα με τις οποίες η κινητοποίηση χυμικών μηχανισμών και ιδιαιτέρως κυτταροκινών συντηρεί και προάγει την εξέλιξη της καρδιακής ανεπάρκειας και συζητούνται οι προσπάθειες φαρμακολογικής αναχαίσεως των καταστρεπτικών μηχανισμών.



**Εικόνα 1.1: Διαδοχικά Στάδια εξέλιξεως αθηροσκληρωτικής βλάβης.**

Κ. Π. Παπαδόπουλος (2005)

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ**

1. Wissler R.W., Geer J.C., (eds): The Pathogenesis of Atherosclerosis. Williams & Wilkins, Baltimore (1972)
2. Fuster V., Ross R., Topol E.J. (eds): Atherosclerosis and Coronary Artery Disease (Volume 1). Lippincott-Raven, Philadelphia, New York (1996)
3. Chiorazzi N., Lahita R.G., Capra J.D., Ferrarini M., Zabriskie J.B. (eds): Immune Mechanisms and Disease. *Annals N.Y. Acad. Sci.*, New York (2003)
4. Shettler F.G., Boyd G.S., (eds): Atherosclerosis. Elsevier, Amsterdam, London, New York (1969)
5. Mann D.L.: Heart Failure. Saunders, Elsevier, Philadelphia (2004)
6. Virchow R.: Rhlogose und Thrombose im Gefässsystem. In *Gesammelte abhandlungen zur Wissenschaftlichen Medicin*, p.458. Frankfurt-am-Main, Meidinger Shn and Co. (1956)
7. Weitzel G., Schön H., et al.: Fettlösliche Vitamin und Atherosklerose. *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.* 304:247-272 (1956)
8. Saltykow S.: Zur kenntnis der alimentären Krankheiten der Versuchstiere. *Virchow Arch. [Path. Anat.]* 213: 8 (1913)
9. Haust M.D., More R.H., Movat H.Z.: The Mechanism of Fibrosis in Atherosclerosis. *Amer J Path.* 35:265-273 (1959)
10. Anitschkow N., & Chalatov S. Über experimentelle Cholesterinsteatose. *Abl. Allg. Path.* 24: 1 (1913)
11. Christensen S.: Transfer of Plasma Phospholipid across the Aortic Intimal Surface of Cholesterol. *Fed Cockerels J. Atheracler Res.* 2: 131-138 (1962)
12. Duncan JR. L.E., Buck K.: Comparison Rates at which Albumin Enters Walls of Small and Large Aortas. *Am J Physiol.* 203: 1167-1169 (1962)
13. Newman H.A.I., Zilvermit D.B.: Quantitative Aspects of Cholesterol Flux in Rabbit Atheromatous Lesions. *J. Biol. Chem.* 237: 2078-2084 (1962)
14. Davis J.N., Adams C.W.M., Bayliss O.B.: Gradient of Cholesterol Concentration across Human Aortic Wall. *Lancet* II: 1254-1255 (1963)
15. Duncan JR.L.E., Buck K., Lynch A.: Lipoprotein Movement through Canine Aortic Wall. *Science* 142: 972-973 (1963)
16. Levy R.I., Stone L.J.: Atherosclerosis: Role of Lipoproteins. In: Chiorazzi N., et al (eds) " Immune Mechanisms and Disease". *Annals N.Y. Acad. Sci.*, New York pp 227-238 (2003)
17. Rokitansky C. Von.: A Manual of Pathological Anatomy, Translated by Day, G.E.Vol.4. London, The Sydenham Society (1852)
18. Duguid J.B.: Thrombosis as a Factor in the Pathogenesis of Coronary Atherosclerosis. *J. Path. Bact* 58: 207 (1946)

19. Duguid J.B.: Thrombosis as a Factor in the Pathogenesis of Aortic Atherosclerosis. *J. Path. Bact.* 60: 57 (1948)
20. Duguid J.B.: Pathogenesis of Arteriosclerosis. *Lancet* 2: 925 (1949)
21. Duguid J.B.: Mural Thrombosis in Arteries. *Brit Med. Bull* 2: 36 (1955)
22. Haust M.D., More R.H.: Development of Modern Theories on the Pathogenesis of Atherosclerosis. In: Chiorazzi N., et al (eds) "Immune Mechanisms and Disease". *Annals N.Y. Acad. Sci.*, New York pp 1-19 (2003)
23. Ross R.: The pathogenesis of Atherosclerosis: A Perspective for the 1990s. *Nature* 362: 801-809 (1993)
24. Fuster V., Badimon L., Badimon J., Chesebro J.H.: The Pathogenesis of Coronary Artery Disease and the Acute Coronary Syndromes. *N Eng J Med* 326: 242-250, 310-318 (1992)
25. Valenzuela R., Shainoff J.R., DiBello P.M., Urbanic D.A., Anderson J.M., Matsueda G.R., Kudryk B.J.: Immunoelectrophoretic and Immunohistochemical Characterizations of Fibrinogen Derivatives in Atherosclerotic Aortic Intimas and Vascular Prosthesis Pseudointimas. *Am J Pathol* 141: 861-880 (1992)
26. Zhang Y., Cliff W.J., Schoefl G.I., Higgins G.: Plasma Protein Insudation as an Index of Early Coronary Atherogenesis. *Am J Pathol* 143: 496-506 (1993)
27. Wilcox J.N.: Thrombotic Mechanisms in Atherosclerosis. *Coron Artery Disease* 5: 223-229 (1994)
28. Nelken N.A., Solfer S.J., O'Keefe J., Vu T-KH, Charo I.F., Coughlin S.R.: Thrombin Receptor Expression in Normal and Atherosclerotic Human Arteries. *J Clin Invest* 90: 1614-1621 (1992)
29. Mallory F.B.: The Infectious Lesions of Blood Vessels. In: Harvey Lectures, Philadelphia, J.B. Lippincott Company, p.150 (1913)
30. Clark E., Graef L., Chasis H.: Thrombosis of the Aorta and Coronary Arteries. With Special Reference to the "Fibrinoid" Lesions. *Arch. Path. (Chicago)* 22: 183 (1936)
31. Mustard J.F., Packham M.A.: Thrombosis and the Development of Atherosclerosis. In Mann D.L. (ed) "Heart Failure". Saunders, Elsevier, Philadelphia pp 214-226 (2004)
32. Mustard J.F., Packham M.A., Rowsell H.C., Jorgensen L.: The Role of Thrombogenic Factors in Atherosclerosis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 149: 848 (1968)
33. Ribbert H.: Ueber die Genese der Arteriosklerosen Veränderungen der Intima. *Verh. Deutsch. Ges Path.* 8: 168 (1904)
34. Rössle R.: Über die serösen Entzündungen der Organe. *Virchow Arch. [Path. Anat.]* 311: 252 (1944)

35. Doerr W.: Perfusionstheorie der Arteriosklerose. In: Bargmann W. & Doerr W.(eds) "Zwanglose Abhandlungen aus dem Gebiet der Normalen und Pathologischen Anatomie". Georg Thieme Verlag Stuttgart (1963)
36. Doerr W.: Arteriosclerosis. In: "Allgemeine Pathologie der Organe des Kreislaufes". Springer-Verlag New York p.568 (1970)
37. Leary T.: The Genesis of Atherosclerosis. *Arch. Pathol.* 32: 507-555 (1941)
38. Glasgow S.: Hemodynamic Risk Factors. In: Chiorazzi N., et al (eds) "Immune Mechanisms and Disease". *Annals N.Y. Acad. Sci.*, New York pp 164-199 (2003)
39. Gotlieb A.I., Langille L.: The Role of Rheology in Atherosclerotic Coronary Artery Disease. In: Wissler R.W., Geer J.C., (eds) "The Pathogenesis of Atherosclerosis". Williams & Wilkins, Baltimore pp 595-606 (1972)
40. Gerrity R.G.: The Role of the Monocyte in Atherogenesis. I. Transition of Blood-Borne Monocytes into Foam Cells in Fatty Lesions. *Am J Pathol* 103: 181-190 (1981)
41. Fagiotto A., Ross R., Harker L.: Studies of Hypercholesterolemia in the Nonhuman Primate. I. Changes that Lead to Fatty Streak Formation. *Arteriosclerosis* 4: 323-340 (1984)
42. Rosenfeld M.E., Tsudada T., Gown A.M., Ross R.: Fatty Streak Initiation in WHHL and Comparably Hypercholesterolemic Fat-Fed Rabbits. *Arteriosclerosis* 7: 9-23 (1987)
43. Li H., Cybulsky M.I., Gimbrone M.A., Libby P.: An Atherogenic Diet Rapidly Induces VCAM-1, A Cytokine-Regulatable Mononuclear Leukocyte Adhesion Molecule, in Rabbit Aortic Endothelium. *Arterioscler Thromb* 13: 197-204 (1993)
44. Nagel T., Resnick N., Atkinson W.J., Dewey C.F. Jr., Gimbrone M.A. Jr.: Shear Stress Selectively Upregulates Intercellular Adhesion Molecule Expression in Cultures Human Vascular Endothelial Cells. *J Clin Invest* 94: 885-891 (1994)
45. Van Furth R.: Origin and Turnover of Monocytes and Macrophages. *Curr Top Pathol* 79: 125-150 (1989)
46. Gordon D., Reidy M.A., Benditt E.P., Schwartz S.M.: Cell Proliferation in Human Coronary Arteries. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 4600-4604 (1990)
47. Springer T.A., Cybulsky M.I.: Traffic Signals on Endothelium for Leukocytes in Health, Inflammation and Atherosclerosis. In: Wissler R.W., Geer J.C., (eds) "The Pathogenesis of Atherosclerosis". Williams & Wilkins, Baltimore pp 511-517 (1972)
48. Raines E.W., Rosenfeld M.E., Ross R.: The role of Macrophages. In: Wissler R.W., Geer J.C., (eds) "The Pathogenesis of Atherosclerosis". Williams & Wilkins, Baltimore pp 539-555 (1972)

49. Faggiotto A., Ross R.: Studies of Hypercholesterolemia in the Nonhuman Primate. II. Fatty Streak Conversion to Fibrous Plaque. *Arteriosclerosis* 4: 341-356 (1984)
50. Quinn M.T., Parthasarathy S., Fong L., Steinberg D.: Oxidatively Modified Low Density Lipoproteins: A Potential Role in the Recruitment and Retention of Monocyte/Macrophages during Atherogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 2995-2998 (1987)
51. Fogelman A.M., Haberland M.E., Seager J., Hokom M., Edwards P.A.: Factors Regulating the Activities of the Low Density Lipoprotein Receptor and the Scavenger Receptor on Human Monocytes-Macrophages. *J Lipid Res* 22: 1131-1141 (1981)
52. Tipping P.G., Hancock W.W.: Production of Tumor Necrosis Factor and Interleukin-1 by Macrophages from Human Atheromatous Plaques. *Am J Pathol* 141: 1721-1728 (1993)
53. Moyer C.F., Sajuthi D., Tulli H., Williams J.K.: Synthesis of IL-1 Alpha and IL-1 Beta by arterial Cells in Atherosclerosis. *Am J Pathol* 138: 951-960 (1991)
54. Ikeda U., Ikeda M., Seino Y., Takahashi M., Kano S., Shimada K.: Interleukin-6 Gene Transcripts are Expressed in Atherosclerotic Lesions of Genetically Hyperlipidemic Rabbits. *Atherosclerosis* 92: 213-218 (1992)
55. Galis Z.S., Sukhova G.K., Kranzhöfer R., Clark S., Libby P.: Macrophage Foam Cells from Experimental Atheroma Constitutively Produce Matrix-Degrading Proteinases. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 402-406 (1995)
56. Miyagawa J., Higashiyama S., Kawata S., Inui Y., Tamura S., Yamamoto K., Nishida M., Nakamura T., Yamashita S., Matsuzawa Y., Taniguchi N.: Localization of Heparin-Binding EGF-Like Growth Factor in the Smooth Muscle Cells and Macrophages of Human Atherosclerotic Plaques. *J Clin Invest* 95: 404-411 (1995)
57. Ross R., Masuda J., Raines E.W., Gown A.M., Katsuda S., Sasahara M., Malden L.T., Masuko H., Sato H.: Localization of PDGF-B Protein in Macrophages in all Phases of Atherogenesis. *Science* 248: 1009-1012 (1990)
58. Daugherty A., Raten K.L.: Presence of LDL Receptor-Related Protein/ $\alpha_2$ -Macroglobulin Receptors in Macrophages of Atherosclerotic Lesions from Cholesterol-Fed New Zealand and Heterozygous Watanabe Heritable Hyperlipidemic Rabbits. *Arterioscler Thromb* 14: 2017-2024 (1994)
59. Hansson G.K., Libby P.: The Role of the Lymphocyte. In: Wissler R.W., Geer J.C., (eds) "The Pathogenesis of Atherosclerosis". Williams & Wilkins, Baltimore pp 557-568 (1972)
60. Banach J., Paczesny S., Blanco P. et al.: Dendritic Cells. In: Mallory F.B (ed) "The Infectious Lesions of Blood Vessels". In: Harvey Lectures, J.B. Lippincott Company, Philadelphia pp180-187 (1913)



61. Accapezzato D., Francavilla V., Propato A. et al.: Mechanisms Inducing of Controlling CD8<sup>+</sup> T Cell Responses against Self- or Non-Self-Antigens. In: Mallory F.B (ed) "The Infectious Lesions of Blood Vessels". In: Harvey Lectures, J.B. Lippincott Company, Philadelphia pp 99-106 (1913)
62. Steimman R.M., Hawiger D., Lin K. et al.: Dendritic Cell Function in Vivo during the Steady State: A Role in Peripheral Tolerance. In: Mallory F.B (ed) "The Infectious Lesions of Blood Vessels". In: Harvey Lectures, J.B. Lippincott Company, Philadelphia pp 15-25 (1913)
63. Mehling A., Loser K., Varga G. et al.: Overexpression of CD40 Ligand in Murine Epidermis Results in Chronic Skin Inflammation and Systemic Autoimmunity. *J Exp. Med.* 194: 615-628 (2001)
64. Levings M.K., Sangeorrio R., Galbiati F. et al.: IFN- $\alpha$  and IL-10 Induce the Differentiation of Human Type 1 T Regulatory Cells. *J Immunol.* 166: 5530-5539 (2001)
65. Lanzavecchia A. & Sallusto F.: Regulation of T Cell Immunity by Dendritic Cells. *Cell* 106: 263-266 (2001)
66. Mellman I. & Steinman R.M.: Dendritic Cells: Specialized and Regulated Antigen Processing Machines. *Cell* 106: 255-258 (2001)
67. Schoenberger S.P., Toes R.E., Van Der Voort E.I. et al.: T-Cell Help for Cytotoxic T Lymphocytes is Mediated by CD40-CD40L Interactions. *Nature* 393: 480-483 (1998)
68. Ridge J.P., Di Rosa F. & Matzinger P.: A Conditioned Dendritic Cell can be a Temporal Bridge between a CD4<sup>+</sup> T-Helper and a T-Killer Cell. *Nature* 393: 474-478 (1998)
69. Bennett S.R., Carbone F.R., Karamalis F. et al.: Help for Cytotoxic-T-Cell Responses is Mediated by CD40 Signalling. *Nature* 393: 478-480 (1998)
70. Ylä-Herttuala S., Palinski W., Rosenfeld M.E. et al.: Evidence of the Presence of Oxidatively Modified Low Density Lipoprotein in Atherosclerotic Lesions of Rabbit and Man. *J Clin Invest* 84: 1086-1095 (1989)
71. Salonen J.T., Ylä-Herttuala S., Yamamoto R. et al.: Autoantibody Against Oxidized LDL and Progression of Carotid Atherosclerosis. *Lancet* 339: 883-887 (1992)
72. Xu Q., Kleindienst R., Waitz W., Dietrich H., Wick G.: Increased Expression of Heat Shock Protein 65 Coincides with a Population of Infiltrating T Lymphocytes in Atherosclerotic Lesions of Rabbits Specifically Responding to Heat Shock Protein 65. *J Clin Invest* 91: 2693-2702 (1993)
73. Parums D.V., Chadwick D.R., Mitchinson M.J.: The Localization of Immunoglobulin in Chronic Periaortitis. *Atherosclerosis* 61: 117-123 (1986)
74. Parums D.V., Brown D.L., Mitchinson M.J.: Serum Antibodies to Oxidized Low-Density Lipoprotein and Ceroid in Chronic Periaortitis. *Arch Pathol Lab Med* 114: 383-387 (1990)

75. Falk E.: Why Do Plaques Rupture? *Circulation* 86 (Suppl III): III-30 – III-42 (1992)
76. Nobuyoshi M., Tanaka M., Nosaka H., Kimura T., Yokoi H., Hamasaki N., Kim K., Shindo T., Kimura K.: Progression of Coronary Atherosclerosis: Is Coronary Spasm Related to Progression? *J Am Cardiol* 18: 904-910 (1991)
77. Danchin N.: Is Myocardial Revascularisation for Tight Coronary Stenoses Always Necessary? (Viewpoint). *Lancet* 342: 224-225 (1993)
78. Davies M.J., Richardson P.D., Woolf N., Katz D.R., Mann J.: Risk of Thrombosis in Human Atherosclerotic Plaques: Role of Extracellular Lipid, Macrophage, and Smooth Muscle Cell Content. *Br Heart J.* 69: 377-381 (1993)
79. Van der Wal A.C., Becker A.E., Van der Loos C.M., Das P.K.: Site of Intimal Rupture or Erosion of Thrombosed Coronary Atherosclerotic Plaques is Characterized By an Inflammatory Process Irrespective of the Dominant Plaque Morphology. *Circulation* 89: 36-44 (1994)
80. Buja L.M., Willerson J.T.: Role of Inflammation in Coronary Plaque Disruption [Editorial]. *Circulation* 89: 503-505 (1994)
81. Galis Z.S., Sukhova G.K., Lark M.W., Libby P.: Increased expression of Matrix Metalloproteinases and Matrix Degrading Activity in Vulnerable Regions of Human Atherosclerotic Plaques. *J Clin Invest* 94: 2493-2503 (1994)
82. Shah P.K., Falk E., Badimon J.J., Levy G., Fernandez-Ortiz A., Fallon J., Fuster V.: Human Monocyte-Derived Macrophages Express Collagenase and Induce Collagen Breakdown in Atherosclerotic Fibrous Caps: Implications for Plaque Rupture. *Circulation* 88: I-254 (abstr) (1993)
83. Loree H.M., Tobias B.J., Gibson L.J., Kamm R.D., Small D.M., Lee R.T.: Mechanical Properties of Model Atherosclerotic Lesion Lipid Pools. *Arterioscler Thromb* 14: 230-234 (1994)
84. Richardson P.D., Davies M.J., Born G.V.R.: Influence of Plaque Configuration and Stress Distribution on Fissuring of Coronary Atherosclerotic Plaques. *Lancet* 2: 941-944 (1989)
85. Loree H.M., Kamm R.D., Stringfellow R.G., Lee R.T.: Effects of Fibrous Cap Thickness on Peak Circumferential Stress in Model Atherosclerotic Vessels. *Circ Res* 71: 850-858 (1992)
86. Cheng G.C., Loree H.M., Kamm R.D., Fisbein M.C., Lee R.T.: Distribution of Circumferential Stress in Ruptured and Stable Atherosclerotic Lesions. A Structural Analysis with Histsopathological Correlation. *Circulation* 87: 1179-1187 (1993)
87. Gertz S.D., Roberts W.C.: Hemodynamic Shear Force in Rupture of

- Coronary Arterial Atherosclerotic Plaques. *Am J Cardiol* 66: 1368-1372 (1990)
88. Wilcox J.N.: Thrombotic Mechanisms in Atherosclerosis. *Coron Artery Disease* 5: 223-229 (1994)
  89. Muller J.E., Abela G.S., Nesto R.W., Tofler G.H.: Triggers, Acute Risk Factors and Vulnerable Plaques: The Lexicon of a New Frontier. *J Am Coll Cardiol* 23: 809-813 (1994)
  90. Fuster V., Badimon L., Badimon J.J., Chesebro J.H.: The Pathogenesis of Coronary Artery Disease and the Acute Coronary Syndromes. (Part I). *N Engl J Med* 326: 242-250 (1992)
  91. Fuster V., Badimon L., Badimon J.J., Chesebro J.H.: The Pathogenesis of Coronary Artery Disease and the the Acute Coronary Syndromes. (Part II). *N Engl J Med* 326: 310-318 (1992)
  92. Badimon L, Chesebro J.H., Badimon J.J.: Thrombus Formation on Rupture Atherosclerotic Plaques and Rethrombosis on Evolving Thrombi. *Circulation* 86 (Suppl III): III-74 – III-85 (1992)
  93. Badimon J.J., Fuster V., Chesebro J.H., Badimon L.: Coronary Atherosclerosis. *Circulation* 87 (Suppl II): II-3 – II-16 (1993)
  94. Marcus A.J.: Platelet Activation. In: Wissler R.W., Geer J.C., (eds) "The Pathogenesis of Atherosclerosis". Williams & Wilkins, Baltimore pp 624-637 (1972)
  95. Loscalzo J, Schafer A.I. (eds): Thrombosis and Hemorrhage. 3<sup>rd</sup> Ed. Lippincott-Williams & Wilkins, Philadelphia (2003)
  96. Badimon L., Badimon J.J.: Interaction of Platelet Activation and Coagulation. In: Wissler R.W., Geer J.C., (eds) "The Pathogenesis of Atherosclerosis". Williams & Wilkins, Baltimore pp 639-656 (1972)
  97. Falk E., Nobuyoshi M.: Differences between Atherosclerosis and Restenosis. In: Wissler R.W., Geer J.C., (eds) "The Pathogenesis of Atherosclerosis". Williams & Wilkins, Baltimore pp 683-700 (1972)
  98. Libby P., Schwartz D., Brogi E., Tanaka H., Clinton S.K.: A Cascade Model for Restenosis. A Special Case of Atherosclerosis Progression. *Circulation* 86: III-47-III-52 (1992)
  99. Miller D.D., Karim M.A., Edwards W.D., Schwartz R.S.: Subendothelial Lymphoid Cell Infiltration is a Prominent Early Response to Porcine Coronary Artery Injury: Relationship to Resolution of Neointimal Fibrin. *Circulation* 86 (Suppl I): I-800(abst) (1992)
  100. Schwartz S.M., Reidy M.A.: Restenosis. In: Fuster V., Ross R., Topol E.J. (eds) "Atherosclerosis and Coronary Artery Disease" (Volume 1). Lippincott-Raven, Philadelphia, New York pp 701-714 (1996)
  101. Fallon J.T.: Pathology of Myocardial Infarction and Reperfusion. In:

- Wissler R.W., Geer J.C., (eds) "The Pathogenesis of Atherosclerosis". Williams & Wilkins, Baltimore pp 791-796 (1972)
102. Naka Y., Stern D.M., Pinsky D.J.: The Pathophysiology and Biochemistry of Myocardial Ischemia, Necrosis and Reperfusion. In: Wissler R.W., Geer J.C., (eds) "The Pathogenesis of Atherosclerosis". Williams & Wilkins, Baltimore pp 807-817 (1972)
  103. Koga S., Ogawa S., Kuwabara K., Brett J., Leavy J., Ryan J., Koga Y., Plockinski J., Benjamin W., Burns D., Stern D.: Synthesis and Release of Interleukin-1 by Reoxygenated Human Mononuclear Phagocytes. *J Clin Invest* 90: 1007-1015 (1992)
  104. Shreeniwas R., Koga S., Karakurum M., Pinsky D., Kaiser E., Brett J., Wolitzky B., Norton C., Plocinski J., Benjamin W., Burns D., Goldstein A., Stern D.: Hypoxia-Mediated Induction of Endothelial Interleukin-1 Alpha. *J Clin Invest* 90: 2333-2339 (1992)
  105. Strieter R., Kunkel S., Showell H., Remick D., Phan S., Want P., Marks R.: Endothelial Cell Gene Expression of a Neutrophil Chemotactic Factor by TNF-Alpha, LPS, and IL-1 Beta. *Science* 243: 1467-1469 (1989)
  106. Baggiolini M., Walz A., Kunkel S.: Neutrophil-Activating Peptide-I/II-8, a Novel Cytokine that Activates Neutrophils. *J Clin Invest* 84: 1045-1049 (1989)
  107. Dinarello C.: Interleukin-1 and its Biologically Related Cytokines. *Adv Immunol* 44: 153-205 (1989)
  108. Sherry B., Cerami A.: Cachectin/Tumor Necrosis Factor Exerts Endocrine, Paracrine, and Autocrine Control of Inflammatory Responses. *J Cell Biol* 107: 1269-1277 (1988)
  109. Schafer H., Mathey D., Hugo F., Bhakdi S.: Deposition of the Terminal C5b-9 Complex in Infarcted Areas of Human Myocardium. *J Immunol* 137: 1945-1949 (1986)
  110. Kilgore K.S., Lucchesi B.R.: Reperfusion Injury after Myocardial Infarction: The Role of Free Radical and the Inflammatory Response. *Clin Biochem* 26: 359-370 (1993)
  111. Horgan M, Wrifht S., Malik A.: Antibody against Leukocyte Integrin (CD18) Prevents Reperfusion-Induced Lung Injury. *Am J Physiol* 259: L315-L319 (1990)
  112. Simpson P, Todd R. III, Fantone J., Michelson J., Griffin J., Lucchesi B.: Reduction of Experimental Canine Myocardial Reperfusion Injury by a Monoclonal Antibody (anti-Mol, anti-CD1 1b) that Inhibits Leukocyte Adhesion. *J Clin Invest* 81: 624-629 (1988)
  113. Repine J., Cheronis J., Rodell T., Linas S., Patt A.: Pulmonary Oxygen Toxicity and Ischemia-Reperfusion Injury. A mechanism in Common In-

- volving Xanthine Oxidase and Neutrophils. *Am Rev Respir Dis* 136: 483-485 (1987)
114. Colletti L., Remick D., Burtch G., Kunkel S., Strieter R., Campbell D.: Role of Tumor Necrosis Factor Alpha in the Pathophysiologic Alterations after Hepatic Ischemia/Reperfusion Injury in the Rat. *J Clin Invest.* 85: 1936-1943 (1990)
115. Dreyer W., Michael L., West M., Smith C., Rothlein R., Rossen R., Anderson D., Entman M.: Neutrophil Accumulation in Ischemic Canine Myocardium: Insights into Time Course, Distribution, and Mechanism of Localization During Early Reperfusion. *Circulation* 84: 400-411 (1988)
116. Romson J.L., Hook B.G., Kunsel S.L., Abrams G.D., Schork M.A., Lucchesi B.R.: Reduction of the Extent of Ischemic Myocardial Injury by Neutrophil Depletion in the Dog. *Circulation* 67: 1016-1023 (1983)
117. Mullane K.M., Read M., Salmon J.A., Moncada S.: Role for Leukocytes in Acute Myocardial Infarction in Anesthetized Dogs: Relationship of Myocardial Salvage by Antiinflammatory Drugs. *J Pharmacol Exp Ther* 228: 510-522 (1984)
118. Lucchesi B., Mullane K.: Leukocytes and Ischemia Induced Myocardial Injury. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 26: 201-224 (1986)
119. Dreyer W.J., Michael L.H., West M.S., Smith C.W., Rothlein R., Rossen R.D., Anderson D.C., Entman M.L.: Neutrophil Accumulation in Ischemic Canine Myocardium. Insights into Time Course, Distribution, and Mechanism of Localization during Early Reperfusion. *Circulation* 84: 400-411 (1991)
120. Entman M.L., Michael L., Rossen R.D., Dreyer W.J., Anderson D.C., Taylor A.A., Smith C.W.: Inflammatory in the Course of Early Myocardial Ischemia. *FASEB J* 5: 2529-2537 (1991)
121. Crawford M., Grover F., Kolb W., McMahan C., O'Rourke R., McManus L., Pinckard R.: Complement and Neutrophil Activation in the Pathogenesis of Ischemic Myocardial Injury. *Circulation* 78: 1449-1458 (1988)
122. Granger K.: Role of Xanthine Oxidase and Granulocytes in Ischemia-Reperfusion Injury. *Am J Physiol* 255: H1269-H1275 (1988)
123. Dell'Italia L.J., Sabri A.: Activation of the Renin-Angiotensin System in Hypertrophy and Heart Failure. In: Shettler F.G., Boyd G.S., (eds) "Atherosclerosis". Elsevier, Amsterdam, London, New York pp 129-144 (1969)
125. Port J.D., Linseman J.V., Bristow M.R.: Adrenergic Receptor Signaling in Chronic Heart Failure. In: Shettler F.G., Boyd G.S., (eds) "Atherosclerosis". Elsevier, Amsterdam, London, New York pp 145-158 (1969)
126. Sawyer D.B., Colucci W.S.: Oxidative stress in Heart Failure. In: Shettler F.G., Boyd G.S., (eds) "Atherosclerosis". Elsevier, Amsterdam, London, New York pp 181-192 (1969)

127. Mann D.L.: Activation of Inflammatory Mediators in Heart Failure. In: Shettler F.G., Boyd G.S., (eds) "Atherosclerosis". Elsevier, Amsterdam, London, New York pp 159-180 (1969)

## Τα κύτταρα της φλεγμονής Μοριακοί φαρμακολογικοί στόχοι στο επίπεδο της κυτταρικής μεμβράνης

Β. Α. Κόκκας, Π. Β. Κόκκα και Κ. Λ. Παπαδόπουλος  
Εργαστήριο Φαρμακολογίας και Β'  
Καρδιολογική Κλινική Ιατρική Σχολή Α.Π.Θ.

### περίληψη

*Η φλεγμονή είναι ένα πολύπλοκο φαινόμενο στο οποίο εμπλέκονται πολλοί παράγοντες. Τα κύτταρα που μετέχουν στις διάφορες φάσεις της φλεγμονής έχουν συμμετοχή είτε στη φυσική ανοσιακή απάντηση είτε στην αντίστοιχη ειδική ή προσαρμοζόμενη. Ανάμεσα στους μοριακούς στόχους της κυτταρικής μεμβράνης που προσφέρονται για φαρμακολογικές παρεμβάσεις περιλαμβάνονται οι διάφοροι υποδοχείς και οι δίαυλοι των ιόντων. Πρόκειται για στόχους που είτε δοκιμάζονται κλινικά είτε ευρίσκονται σε διάφορες φάσεις έρευνας.*

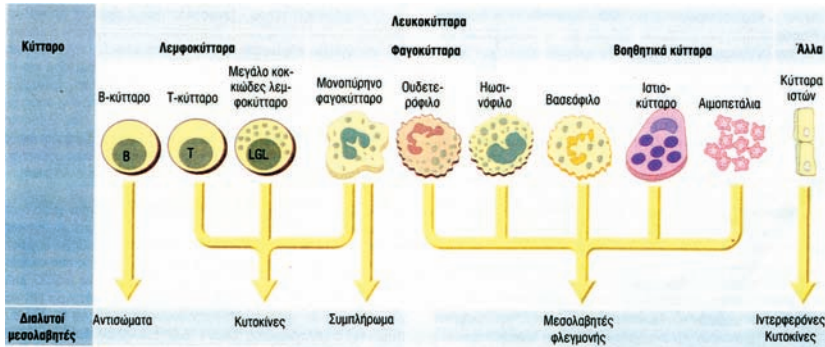
### εισαγωγή

Η ανοσοβιολογική ή ανοσιακή απόκριση του οργανισμού σε κάθε βλαπτικό παράγοντα είναι στενά συνδεδεμένη με τη φλεγμονή. Από το σύνολο των κυττάρων που στρατεύονται και δραστηριοποιούνται κατά τη φλεγμονή, άλλα είναι ανοσιακά και άλλα όχι. Άλλα συμμετέχουν στη φυσική ανοσιακή απόκριση και άλλα στην ειδική προσαρμοζόμενη απόκριση. Η φυσική απόκριση ευρίσκεται στην πρώτη γραμμή άμυνας ενάντια σε κάθε αντιγόνο, χωρίς να απαιτείται προηγούμενη έκθεση σε αυτό. Η προσαρμοζόμενη απόκριση αναπτύσσεται μετά τη λήψη της βιολογικής πληροφορίας και στρέφεται εξειδικευμένα προς το συγκεκριμένο αντιγόνο.

Οι διάφοροι παράγοντες οι οποίοι ενεργοποιούν τα κύτταρα της φλεγμονής διεγείρουν ειδικούς υποδοχείς στην κυτταρική μεμβράνη των τελευταίων. Οι υποδοχείς αυτοί αποτελούν στόχους φαρμακολογικών παρεμβάσεων ή ερευνών για μελλοντικές εκλεκτικές φαρμακολογικές παρεμβάσεις.

## ΦΥΣΙΚΗ ΑΝΟΣΙΑΚΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ

Τα περισσότερα κύτταρα που συμμετέχουν στη φάση αυτή της ανοσιακής ή ανοσοβιολογικής αντίδρασης ή απόκρισης διεγείρουν παράλληλα και την προσαρμοζόμενη φάση της αντίδρασης αυτής, παρέχοντας τη βιολογική πληροφορία, δηλαδή τη γνωστοποίηση της φύσης του αντιγόνου στα Τ-λεμφοκύτταρα, ώστε η επίκτητη ανοσία να αναπτύξει ειδική Τ-κλωνική απόκριση προσαρμοσμένη αποκλειστικά στο αντιγόνο αυτό. Συνοπτικά οι λειτουργίες που επιτελεί το καθένα από αυτά τα κύτταρα κατά τις δύο αυτές φάσεις έχουν ως εξής: (1-11)



**Εικόνα 2.1: Τα κυριότερα κύτταρα του ανοσιακού συστήματος.** Κάθε κύτταρο παράγει και εκκρίνει μία συγκεκριμένη σειρά κυτταροκινών ή μεσολαβητών της φλεγμονής. Τα κλάσματα του συμπληρώματος παράγονται κυρίως από το ήπαρ και εν μέρει από τα μονοπύρρηνα φαγοκύτταρα. Page C. et al. *Integrated Pharmacology- Ελληνική Έκδοση, Ιατρικές Εκδόσεις Π. Πασχαλίδη, Αθήνα (1997)*

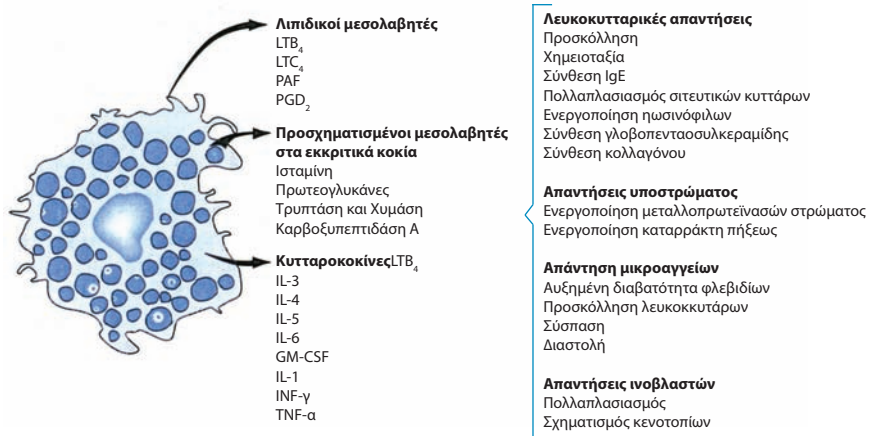
### Μακροφάγα των ιστών και σιτευτικά κύτταρα

Τα μακροφάγα των ιστών, όπως τα ιστιοκύτταρα, τα νευρογλοιακά κύτταρα, τα κονιοκύτταρα, κ.α, από την πρώτη στιγμή που θα εισβάλει ο βλαπτικός παράγοντας διεγείρονται, μεγεθύνονται, σπάζουν τους δεσμούς με τους πέριξ ιστούς, αποκτούν κινητικότητα και μετακινούνται προς αυτόν, όπου και προβαίνουν στην πρώτη φάση της φαγοκυττάρωσης συνθέτοντας παράλληλα και αντιμικροβιακά πεπτιδία. Συγχρόνως, τόσο αυτά όσο και τα σιτευτικά κύτταρα απελευθερώνουν χημειοτακτικούς παράγοντες μεσολαβητές της φλεγμονής, όπως ο PAF (Platelet Activating Factor: Παράγοντας Ενεργοποίησης Αιμοπεταλίων), διάφορες λευκοτριένες (LTs) και προσταγλανδίνες (PGs), οι ιντερλευκίνες IL-1, IL-6 και ο TNF-α (Tumor Necrosis Factor-α: Νεκρωτικός των Όγκων Παράγοντας). Οι παράγοντες αυτοί κινητοποιούν

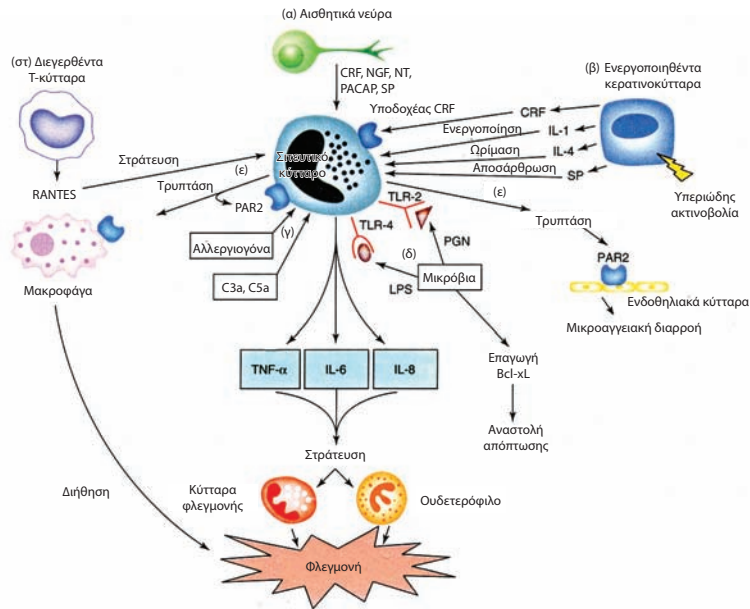


τους μηχανισμούς της φλεγμονής και προσελκύουν μεγάλο αριθμό λευκοκυττάρων. Τα μακροφάγα των ιστών, τα οποία αποτελούν την πρώτη γραμμή άμυνας, έχουν την ικανότητα να συνδέονται με λιποσακχαρίδες (LPS: Liposaccharides) των μικροβίων.

Ειδικότερα τα μακροφάγα μέσω των IL-1 και TNF-α πλειορρυθμίζουν (upregulate) τα μόρια προσκόλλησης των λεμφοκυττάρων, ενώ μέσω των χημειοκινών προσελκύουν λεμφοκύτταρα με ειδικό αντιγόνο. Με την IL-12 που συνθέτουν, διεγείρουν τις αντιδράσεις των T<sub>H</sub>1 βοηθητικών T-κυττάρων. Επίσης πλειορρυθμίζουν συν-διεγερτικούς παράγοντες και μόρια του μείζονος συστήματος ιστοσυμβατότητας (MHC: Major Histocompatibility Complex), ώστε να διευκολύνεται η αναγνώριση από τα T και τα B-λεμφοκύτταρα. Το σήμα το οποίο κινητοποιείται με τους LPS διεγείρει τους συν-διεγερτικούς παράγοντες CD80 και CD86 οι οποίοι είναι απαραίτητοι για την ενεργοποίηση των T-κυττάρων.



**Εικόνα 2.2: Διεγερθέν σιτευτικό κύτταρο.** Μεσολαβητές της φλεγμονής οι οποίοι απελευθερώνονται από τα διεγερθέντα σιτευτικά κύτταρα και βιολογικές δράσεις αυτών.  
*Harrison's Principles of Internal Medicine (2001)*



**Εικόνα 2.3: Ο ρόλος των σιτευτικών κυττάρων στην εξέλιξη της φλεγμονής.** Το παράδειγμα αφορά το δέρμα και τα διάφορα ερεθίσματα που δρουν διεγερτικά. **(α)** Τα αισθητικά νεύρα, όταν ερεθίζονται, απελευθερώνουν νευροπεπτίδια όπως ο CRF (Corticotropin-Releasing Factor), NGF (Nerve Growth Factor), NT (Neurotensin), PACAP (Pituitary Adenylate Cyclase Activating Polypeptide) και SP (Substance P), τα οποία διεγείρουν τα σιτευτικά κύτταρα. **(β)** Τα κύτταρα της κερατίνης στιβάδας καθώς διεγείρονται από την υπεριώδη ακτινοβολία απελευθερώνουν επίσης τους CRF, SP και τις ιντερλευκίνες IL-1 και IL-4 και μέσω των τριών πρώτων προάγουν τη διέγερση και αποσάθρωση των σιτευτικών κυττάρων, ενώ η IL-4 προάγει την ωρίμανση και πολλαπλασιασμό των υποδοχέων του CRF στα ίδια κύτταρα. **(γ)** Τα σιτευτικά κύτταρα μπορούν να διεγερθούν επίσης από αλλεργιογόνα μέσω των υποδοχέων FcεR της ανοσοσφαιρίνης E και από τις αναφυλοτοξίνες (τμήματα CD3a, CD5a του συμπληρώματος) **(δ)** και από μικρόβια μέσω των υποδοχέων TLR-2 (Toll Like Receptors-2) και TLR-4. Όλα αυτά τα ερεθίσματα οδηγούν στην απελευθέρωση από τα σιτευτικά κύτταρα ειδικών κυτταροκινών, όπως ο TNF-α, και διαφόρων άλλων ιντερλευκινών οι οποίες προάγουν τη φλεγμονώδη αντίδραση. Η ενεργοποίηση από τα μικρόβια του παράγοντα Bcl-xL δρα ανασταλτικά στην απόπτωση των κυττάρων αυτών. **(ε)** Η τρυπτάση που απελευθερώνουν τα κύτταρα αυτά δρα στους υποδοχείς PAR2 (Protease Activated Receptor 2) στα ενδοθηλιακά κύτταρα και αυξάνει τη διαπερατότητα του τοιχώματος των μικροαγγείων, ενώ μπορεί να δράσει και με αυτοκρινή τρόπο στα σιτευτικά κύτταρα και να επιτείνει τη διέγερσή τους. **(στ)** Καθώς τα T-κύτταρα διεγείρονται, απελευθερώνουν τον παράγοντα RANTES (Regulated on Activation, Normal T cells, Expressed and Secreted) ο οποίος στρατεύει μακροφάγα, σιτευτικά κύτταρα και λεμφοκύτταρα, ενώ η IL-8 τα ουδετερόφιλα. Όλοι αυτοί οι μηχανισμοί οδηγούν στην ανάπτυξη φλεγμονής. *Trends Pharmacol. Sci.* 25: 565 (2004)

### ***Ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα***

Τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα του αίματος διέρχονται από τις πρώτες ώρες του ιστικού τραυματισμού το ενδοθήλιο προς την περιοχή της βλάβης. Η αποστολή τους είναι να σαρώνουν και να καθαρίζουν την περιοχή φονεύοντας τα μικρόβια και μετακινώντας κάθε ξένο σώμα. Τα κύτταρα αυτά έχουν πολύ μικρή ζωή, περίπου μία ημέρα, πλην όμως είναι ώριμα κύτταρα που διαθέτουν λυτικά ένζυμα και οξειδωτικές ρίζες. Αποτελούν τη δεύτερη γραμμή άμυνας των πρώτων ωρών μετά την ιστική βλάβη. Εκφράζουν, μεταξύ άλλων, στην επιφάνειά τους Fc-υποδοχείς για την IgG (CD16) και υποδοχείς για τα κλάσματα του ενεργοποιημένου συμπληρώματος C3b ή CD35, δηλαδή τους παράγοντες που προκαλούν την οψωνοποίηση. Συνθέτουν την NOS (NO Synthetase) και μέσω αυτής το NO το οποίο αναστέλλει την απόπτωση των λεμφοκυττάρων, παρατείνοντας έτσι την προσαρμοζόμενη ανοσιακή απόκριση.

### ***Μονοκύτταρα***

Τα μονοκύτταρα του αίματος αρχίζουν μαζί με τα ουδετερόφιλα να περνούν από το αίμα και μέσα από το ενδοθήλιο προς τον φλεγμαινόντα ιστό, όπου και μεγεθύνονται καθιστάμενα φαγοκύτταρα. Χρειάζονται περίπου οκτώ ώρες για να ωριμάσουν, να συνθέσουν μεγάλες ποσότητες λυσοσωματίων και να αποκτήσουν φαγοκυτταρικές ικανότητες. Η φαγοκυτταρική τους ικανότητα είναι μεγάλη και αφορά μικρόβια, νεκρωτικούς ιστούς ακόμη και ουδετερόφιλα κύτταρα που έχουν καταπονηθεί. Παράλληλα έχουν σπουδαίο ρόλο στη διαδικασία σχηματισμού αντισωμάτων. Φέρουν στην επιφάνειά τους υποδοχείς για τους LPS των μικροβίων. Η ενεργοποίησή τους οδηγεί σε καταρράκτη αντιδράσεων, οι οποίες προάγουν τη σύνθεση κυτταροκινών και την αναβάθμιση μορίων επιφανείας τα οποία σηματοδοτούν την έναρξη των προσαρμοστικών ανοσοποιητικών αποκρίσεων. Τα κύτταρα αυτά αποτελούν την τρίτη γραμμή άμυνας.

### ***Βασεόφιλα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα***

Τα βασεόφιλα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα που κυκλοφορούν στο αίμα έχουν πολλές ομοιότητες με τα μεγάλα σιτευτικά κύτταρα που ευρίσκονται άμεσα εκτός των τριχοειδών. Απελευθερώνουν και τα δύο είδη κυττάρων ουσίες όπως η ισταμίνη, η ηπαρίνη και σε μικρότερες ποσότητες η βραδυκινίνη και η σεροτονίνη. Αποτελούν επίσης δεξαμενές για κυτταροκίνες όπως η IL-4. Παίζουν σπουδαίο ρόλο σε ορισμένους τύπους αλλεργικών αντιδράσεων, διότι το υπεύθυνο αντίσωμα IgE ανοσοσφαιρίνη έχει την ικανότητα να προσκολλάται σε αυτά. Όταν η IgE ενώνεται με το αντιγόνο, τα κύτταρα αυτά απελευθερώνουν τις ουσίες που αναφέρθηκαν και μεγά-

λο αριθμό λυσοσωματίων, με αποτέλεσμα τις γνωστές αγγειακές και ιστικές αντιδράσεις.

### **Ηωσινόφιλα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα**

Τα ηωσινόφιλα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα αντιπροσωπεύουν πολύ μικρό ποσοστό των λευκοκυττάρων, έχουν ασθενείς φαγοκυτταρικές ικανότητες και πολύ λίγο συμβάλλουν στην αντιμετώπιση της φλεγμονής. Έχουν όμως την ικανότητα να συγκεντρώνονται σε ιστούς όπου συμβαίνουν αλλεργικές αντιδράσεις. Έλκονται από τον χημειοτακτικό παράγοντα των ηωσινοφίλων, τον οποίο εκλύουν τα βασεόφιλα και τα σιτευτικά κύτταρα που επίσης συρρέουν στα σημεία αυτά. Πιστεύεται ότι έχουν την ικανότητα να ελαττώνουν την τοξικότητα ουσιών που απελευθερώνονται από τα βασεόφιλα και τα ιστιοκύτταρα και προάγουν τη φλεγμονή. Ακόμη πιστεύεται ότι έχουν τη δυνατότητα να φαγοκυτταρώνουν και να καταστρέφουν το σύμπλοκο αντιγόνου-αντισώματος. Επίσης τα ηωσινόφιλα παράγονται σε μεγάλες ποσότητες σε παρασιτικές λοιμώξεις. Προσκολλώνται στην επιφάνεια των παρασίτων και απελευθερώνουν ουσίες που φονεύουν πολλά από αυτά. Εκφράζουν επίσης στην επιφάνειά τους Fc-υποδοχείς για την IgG (CD32) ανοσοσφαιρίνη.

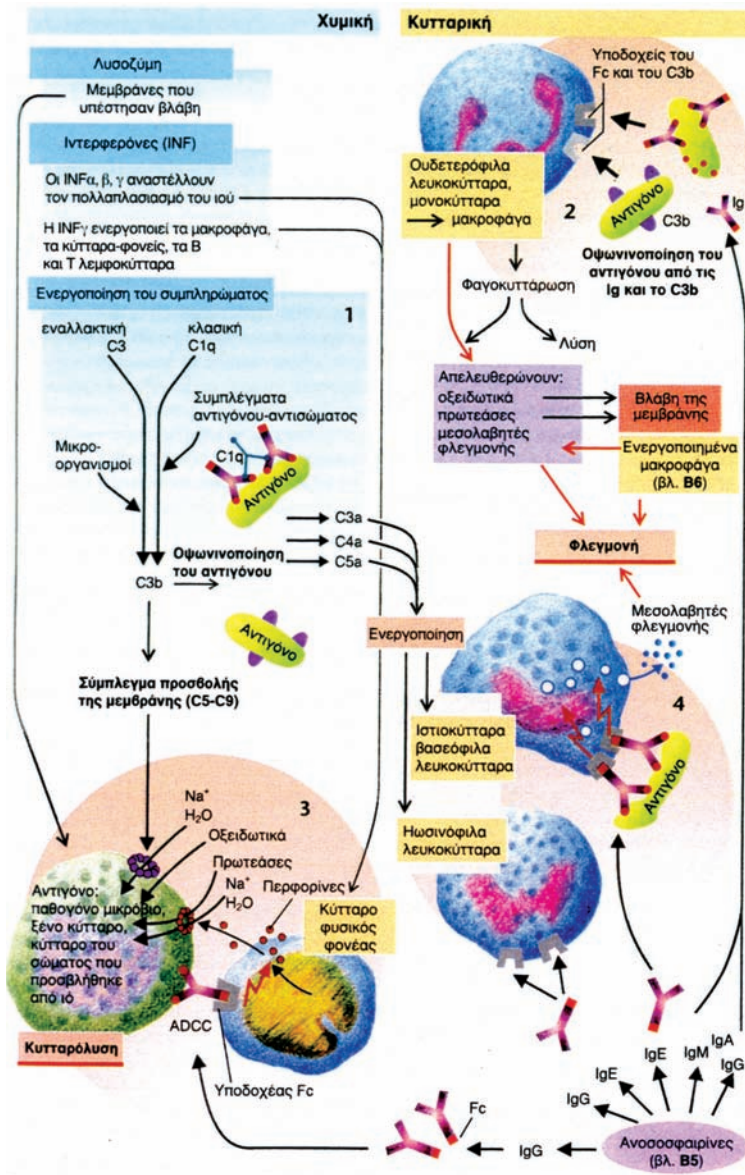
### **Κύτταρα φυσικοί φονείς**

Πρόκειται για δραστικά λεμφοκύτταρα που λύουν κύτταρα μολυσμένα και συνθέτουν τη γ-ιντερφερόνη. Περιορίζουν, μεταξύ άλλων, τον πολλαπλασιασμό και τη διασπορά των ιών, ιδιαίτερα κατά την αρχική φάση των λοιμώξεων αυτών.

### **T-κύτταρα φυσικοί φονείς**

Τα T-κύτταρα φυσικοί φονείς (NK-T cell) είναι λεμφοκύτταρα τα οποία έχουν στην επιφάνειά τους σημεία αναγνώρισης τόσο των T-λεμφοκυττάρων όσο και των κυττάρων φυσικών φονέων (NK). Αναγνωρίζουν λιπιδικά αντιγόνα των ενδοκυττάρια ευρισκόμενων μετά τη φαγοκυττάρωση μικροβίων και φονεύουν τα κύτταρα φορείς.

Τα κύτταρα φυσικοί φονείς (NK: Natural killer) διαφέρουν από τα κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα στο ότι δεν χρειάζεται να αναγνωρίσουν ειδικό αντιγόνο στο κύτταρο στόχο για να επιτεθούν. Περιέχουν κοκκία με ισχυρές χημικές ουσίες και με την επαφή με το κύτταρο στόχο τις εκτοξεύουν. Φονεύουν ξένα κύτταρα αλλά και κύτταρα του οργανισμού τα οποία έχουν χαμηλή έκφραση του MHC. Έχουν στην επιφάνειά τους υποδοχείς για την IL-2 και απαντούν στη διέγερση από την κυτταροκίνη αυτή και από τα αντιγόνα των T-κυττάρων. Έχουν επίσης στην επιφάνειά τους NK-υποδοχείς οι



**Εικόνα 2.4: Σχηματική παράσταση των διαφόρων σταδίων εξέλιξης της φυσικής ανοσιακής απόκρισης.** Η χημική και η κυτταρική αντίδραση συγκλίνουν με τελικό στόχο την εξουδετέρωση του βλαπτικού παράγοντα που προκαλεί την ιστική βλάβη. Η μη ειδική άμυνα προάγεται από χημικές αμυντικές ουσίες, όπως οι λυσοζύμες, και παράγοντες του συμπληρώματος, καθώς και από τα φαγοκύτταρα των ιστών και τα μεταναστεύοντα εκ του αίματος.  
*Silbernagl St., Lang F.: Εικονογραφημένο εγχειρίδιο Παθοφυσιολογίας. Ιατρικές & Επιστημονικές Εκδόσεις Σιωκή (2002)*

οποίοι σταματούν τη δράση τους όταν συναντούν κύτταρα του οργανισμού τα οποία έχουν υψηλή έκφραση του MHC.

### **Ενδοθηλιακά κύτταρα**

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα συμμετέχουν και ενορχηστρώνουν μηχανισμούς που έχουν σχέση με την έναρξη και την πορεία της φλεγμονής. Είναι γνωστό ότι η αντίδραση μεταξύ των παθογόνων παραγόντων και των κυττάρων του ξενιστή καταλήγει συγχρόνως σε κινητοποίηση των βιοχημικών καταρρακτών τόσο της φλεγμονής όσο και της πήξης του αίματος. Οι μηχανισμοί φλεγμονής και θρόμβωσης εξελίσσονται παράλληλα και άπαξ και διεγερθούν, αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και επιτείνουν την ανοσιακή απάντηση. Το τραυματισμένο ενδοθήλιο συμμετέχει στους μηχανισμούς αυτούς με πολλούς τρόπους.

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα έχουν σπουδαίο ρόλο τόσο στη σύνθεση ουσιών που προάγουν την αγγειοδιαστολή όσο και ουσιών που προάγουν τους μηχανισμούς που μεθοδεύουν την προσκόλληση και τη διαπίδυση των λευκοκυττάρων. Τελευταία, διαπιστώθηκε στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων η ύπαρξη μίας περιοχής προσορμισμού (docking) που η δομή της είναι πλούσια σε ακτίνη και στην οποία γίνεται η αγκυροβόληση και το αγκάλιασμα των λευκοκυττάρων. Επίσης η παρουσία των υποδοχέων-PARs (Protease-Activated Receptors: υποδοχείς ενεργοποιημένοι από πρωτεάσες) στην κυτταρική μεμβράνη των ενδοθηλιακών κυττάρων συνδέει τους μηχανισμούς φλεγμονής με τους αντίστοιχους της θρόμβωσης και δημιουργεί τις προϋποθέσεις ώστε να θεωρηθούν τα κύτταρα αυτά ως προφλεγμονώδεις παράγοντες.

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα αντιδρούν με διαφορετικούς τρόπους στα διάφορα παθογόνα και αυτό εξαρτάται από τη φύση των τελευταίων, τις γονιδιακές καταβολές του ξενιστή, το γένος, την ηλικία του και το είδος του αγγείου. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα μπορεί να υποστούν μορφολογικές μεταβολές όπως η εξοίδηση, ο σχηματισμός κενοτοπίων, η κατάτμηση του κυτταροπλάσματος και η αποφολίδωση. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα, όμως, μπορεί να υποστούν και λειτουργικές διαταραχές που είναι πιο συχνές. Οι διαταραχές αυτές του ενδοθηλίου συνίστανται στην ανατροπή της αιμοστατικής ισορροπίας, στην αυξημένη προσκόλληση και διαπίδυση των λευκοκυττάρων, στη μεταβολή των αγγειοκινητικών ιδιοτήτων, στην αδυναμία του ενδοθηλίου να λειτουργήσει ως φραγμός και στα αποπτωτικά φαινόμενα.

### **Αιμοπετάλια**

Τα αιμοπετάλια έχουν σπουδαίο ρόλο στην εξέλιξη της φλεγμονής, ιδιαίτερα όταν η φλεγμονώδης αντίδραση συμβαίνει στο αγγειακό επίπεδο ύστερα από τραυματισμό του ενδοθηλίου. Κλασικό παράδειγμα είναι η κινητο-

ποίηση των μηχανισμών που οδηγούν στην αθηρωμάτωση. Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια προσκολλώνται στο αγγειακό τοίχωμα και μπορούν να αντικαταστήσουν τα ενδοθηλιακά κύτταρα στη στράτευση των λευκοκυττάρων. Δημιουργείται ένα σύμπλεγμα αιμοπεταλίων-λευκοκυττάρων με την ενεργοποίηση των μορίων προσκόλλησης και των αντίστοιχων υποδοχέων τους στα δύο είδη κυττάρων. Αλλά και τα λευκοκύτταρα διεγείρουν ακόμη περισσότερο τα αιμοπετάλια επιτείνοντας τους μηχανισμούς θρόμβωσης, ενώ παράλληλα απελευθερώνουν ουσίες όπως η καθεψίνη G και άλλα πρωτεολυτικά ένζυμα που διασπούν τον ενδοθηλιακό φραγμό.

### **Άλλα κύτταρα**

Τα επιθηλιακά κύτταρα παράγουν αντιμικροβιακά πεπτιδικά και μεσολαβητές της τοπικής φλεγμονής ανάλογα με τη θέση τους και το είδος της ανοσιακής απόκρισης. Επίσης παράγουν τον μετατρεπτικό ή τροποποιητικό αυξητικό παράγοντα-β (TGF-β: Transforming Growth Factor-β) ο οποίος διεγείρει τις αντιδράσεις των ειδικών αντισωμάτων IgA.

Τα άωρα δενδριτικά κύτταρα συνθέτουν μεγάλες ποσότητες ιντερφερόνης-α (INF-α: Interferon-α), η οποία είναι ισχυρός ενεργοποιητής των μακροφάγων.

## **ΕΙΔΙΚΗ ΠΡΟΣΑΡΜΟΖΟΜΕΝΗ ΑΝΟΣΙΑΚΗ ΑΠΟΚΡΙΣΗ**

Όπως ήδη αναφέρθηκε, η απόκριση αυτή ακολουθεί μετά τη λήψη της βιολογικής πληροφορίας από την αντίστοιχη φυσική και είναι προσαρμοσμένη προς το συγκεκριμένο αντιγόνο. Τα κυριότερα κύτταρα που συμμετέχουν στην απόκριση αυτή είναι τα T και τα B-λεμφοκύτταρα, τα οποία παριστούν και τους δύο κύριους τύπους των λεμφοκυττάρων. Τα B-λεμφοκύτταρα παράγονται και ωριμάζουν στο μυελό των οστών ενώ τα T-λεμφοκύτταρα παράγονται μεν στο μυελό των οστών, ωριμάζουν όμως στον θύμο αδένα (12,13).

### **Τα T-λεμφοκύτταρα**

Τα ανώριμα T-λεμφοκύτταρα ονομάζονται και θυμοκύτταρα κατά τη διάρκεια της παραμονής τους στον θύμο αδένα. Η ωρίμαση στον θύμο αδένα ακολουθεί διάφορες φάσεις, όπως είναι η διαφοροποίηση και η αρνητική ή θετική επιλογή. Αρνητική επιλογή είναι η καταστροφή των μορφών εκείνων που αναγνωρίζουν αντιγόνα του ίδιου του οργανισμού και θα ήταν επιβλαβή αν απελευθερώνονταν προς την περιφέρεια. Η θετική επιλογή αφορά την επιβίωση των κυττάρων αυτών που αναγνωρίζουν μόνο ξένα αντιγόνα (12,13).

Τα μακροφάγα και γενικά τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα τα οποία έχουν ήδη φαγοκυτταρώσει και εν μέρει πέψει τον βλαπτικό παράγοντα προάγουν την ενεργοποίηση των Τ-λεμφοκυττάρων. Αυτό γίνεται με επαφή κυττάρου προς κύτταρο, οπότε το Τ-λεμφοκύτταρο αναγνωρίζει και συνδέεται με το αντιγόνο που προβάλλεται από το ώριμο δενδριτικό κύτταρο (μακροφάγο) συνδεδεμένο με το μόριο ΙΙΑ, το οποίο επίσης αναγνωρίζεται από παράλληλο υποδοχέα του Τ-λεμφοκυττάρου, παράλληλα δε δέχεται μία δέσμη ενεργοποιητικών παραγόντων από κυτταροκίνες όπως η ΙΙ-1. Η επαφή των Τ-λεμφοκυττάρων με το αντιστοιχούν αντιγόνο προκαλεί την ενεργοποίησή τους και η ΙΙ-1 προάγει την αύξηση και τον ταχύτατο πολλαπλασιασμό τους.

Σε περίπτωση αστοχίας συνεπίδρασης κάποιων από τους ενεργοποιητικούς παράγοντες, το Τ-λεμφοκύτταρο καθίσταται ανασταλτικό και εγκαθιστά ανοχή περιφερειακού τύπου.

Τα Τ-λεμφοκύτταρα διαφοροποιούνται, πολλαπλασιάζονται κλωνοτυπικά και στη συνέχεια εξέρχονται από τους λεμφαδένες και περνούν προς την αιματική κυκλοφορία. Γενικά, το είδος των υποδοχέων των χημειοκινών στα Τ-λεμφοκύτταρα και το είδος των συντιθέμενων χημειοκινών από τον κάθε ιστό ελέγχουν και τη σύνθεση των λεμφοκυττάρων που διηθούν την κάθε φλεγμονώδη εστία.

Τα ώριμα Τ-λεμφοκύτταρα αποτελούν το 70-80% των λεμφοκυττάρων του αίματος. Τα Τ-λεμφοκύτταρα εκφράζουν επιφανειακές πρωτεΐνες οι οποίες σηματοδοτούν τα διάφορα στάδια της ενδοθυμικής ωρίμανσης αυτών ή χαρακτηρίζουν ειδικές λειτουργικές ομάδες πληθυσμών των ώριμων Τ-λεμφοκυττάρων. Τα ώριμα Τ-λεμφοκύτταρα διακρίνονται σε δύο κύριες κατηγορίες:

1. Τα CD4 Τ-λεμφοκύτταρα ή βοηθητικά Τ-κύτταρα (Helper T-cells) τα οποία στέλνουν σήματα και κινητοποιούν άλλα κύτταρα στο να καταστρέψουν τους λοιμογόνους μικροοργανισμούς.
2. Τα CD8 Τ-λεμφοκύτταρα ή κυτταροτοξικά (CTL: Cytotoxic Lymphocytes) τα οποία αναγνωρίζουν και καταστρέφουν ανώμαλα ή μολυσμένα κύτταρα. Πρόκειται για λεμφοκύτταρα ενεργοποιημένα από αντιγόνα που παρουσιάζονται από μόρια ΜHC-1.

Τα CD4 Τ-λεμφοκύτταρα έχουν κεντρικό ρόλο όσον αφορά τη ρύθμιση των λειτουργιών των διαφόρων κυττάρων που συμμετέχουν στην ανοσιακή απόκριση. Η αρχική επαφή με τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα γίνεται στους λεμφαδένες και από τη στιγμή που το λεμφοκύτταρο αυτό ενεργοποιηθεί με μηχανισμό που θα αναπτυχθεί στη συνέχεια, η σειρά των λεμφοκυττάρων που θα παραχθεί είναι σε θέση να αναγνωρίζει το αντιγόνο αυτό σε κάθε σημείο του σώματος.



Βασικό ρόλο για τη διαφοροποίηση των κυττάρων αυτών προς Th1 λεμφοκύτταρα παίζει η ιντερλευκίνη IL-12. Η ιντερλευκίνη αυτή δρα στα ενεργοποιημένα από το αντιγόνο CD4 T-λεμφοκύτταρα μέσω ειδικού διαμεμβρανικού υποδοχέα ο οποίος ενεργοποιεί τον μεταγραφικό παράγοντα STAT και διαφοροποιεί τα κύτταρα αυτά προς το φαινότυπο των Th1 λεμφοκυττάρων. Τα CD4 T-λεμφοκύτταρα διακρίνονται σε πολλές επί μέρους κατηγορίες.

Τα Th1 λεμφοκύτταρα απελευθερώνουν κυρίως την ιντερλευκίνη IL-2, την INF- $\gamma$  και τον TNF- $\alpha$  και προάγουν τον πολλαπλασιασμό των T-λεμφοκυττάρων, τη διέγερση των μακροφάγων, την εμφάνιση της βραδέος τύπου υπερευαισθησίας και την επίταση της κυτταρολυτικής δράσης των κυττάρων φυσικών φονέων και των CTL-λεμφοκυττάρων. Ειδικότερα, η INF- $\gamma$  διεγείρει την παραγωγή των ανοσοσφαιρινών IgG1 και IgG3 που δρουν ως οψωνίνες και διευκολύνουν τους μηχανισμούς φαγοκυττάρωσης.

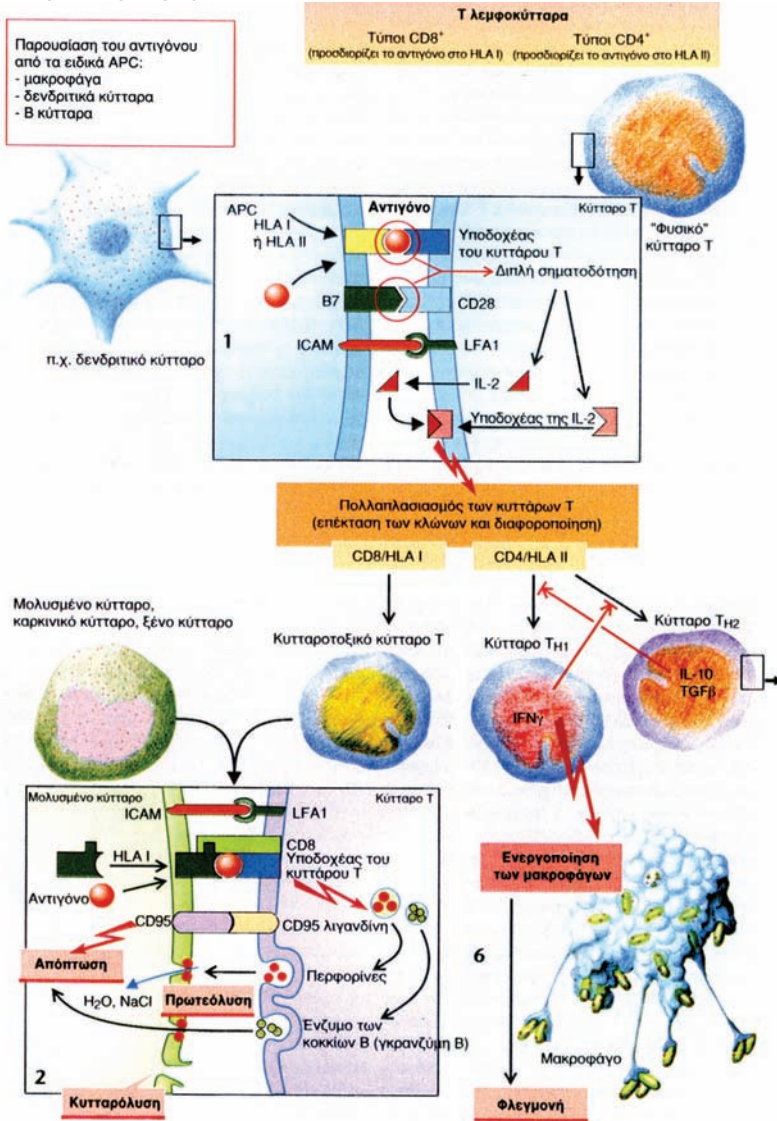
Τα Th2 λεμφοκύτταρα απελευθερώνουν τις ιντερλευκίνες IL-4, IL-5 και IL-10. Οι δύο πρώτες ιντερλευκίνες προάγουν τις απαντήσεις των αντισωμάτων του τύπου IgE και τη στράτευση των ηωσινοφίλων προωθώντας την αλλεργικού τύπου αντίδραση.

Τα Th0- λεμφοκύτταρα απελευθερώνουν μια ομάδα κυτταροκινών με χαρακτηριστικά των απαντήσεων τόσο του τύπου Th1 όσο και του τύπου Th2 (12).

Μία άλλη κατηγορία των CD4 T-λεμφοκυττάρων είναι τα ρυθμιστικά T-λεμφοκύτταρα, όπως είναι τα Tr, τα Treg και τα Th3. Τα λεμφοκύτταρα αυτά έχουν έναν ρόλο κλειδί στο να συγκροτούν την ανοσιακή ανοχή τόσο έναντι των ιδίων κυττάρων του οργανισμού όσο και έναντι ξένων βλαβερών σωμάτων. Η διέγερση των κυττάρων αυτών μπορεί να οφείλεται είτε σε προφλεγμονώδη μόρια του ξενιστή είτε σε προϊόντα των μικροβίων. Στην κατηγορία των Treg ρυθμιστικών T-λεμφοκυττάρων έχει διαπιστωθεί η ύπαρξη υποδοχέων TLR (Toll like Receptors) για τους οποίους θα γίνει στη συνέχεια περιγραφή. Ορισμένα ρυθμιστικά T-λεμφοκύτταρα δεν παράγουν κυτταροκίνες και καταστέλλουν την αντίδραση των T-λεμφοκυττάρων μέσω μηχανισμού που απαιτεί την επαφή κυττάρου προς κύτταρο. Άλλες κατηγορίες ρυθμιστικών T-λεμφοκυττάρων παράγουν ανοσορυθμιστικές κυτταροκίνες όπως η ιντερλευκίνη IL-10 και ο παράγοντας TGF- $\beta$  και ασκούν την κατασταλτική τους δράση εν μέρει μέσα από τις κυτταροκίνες αυτές (12).

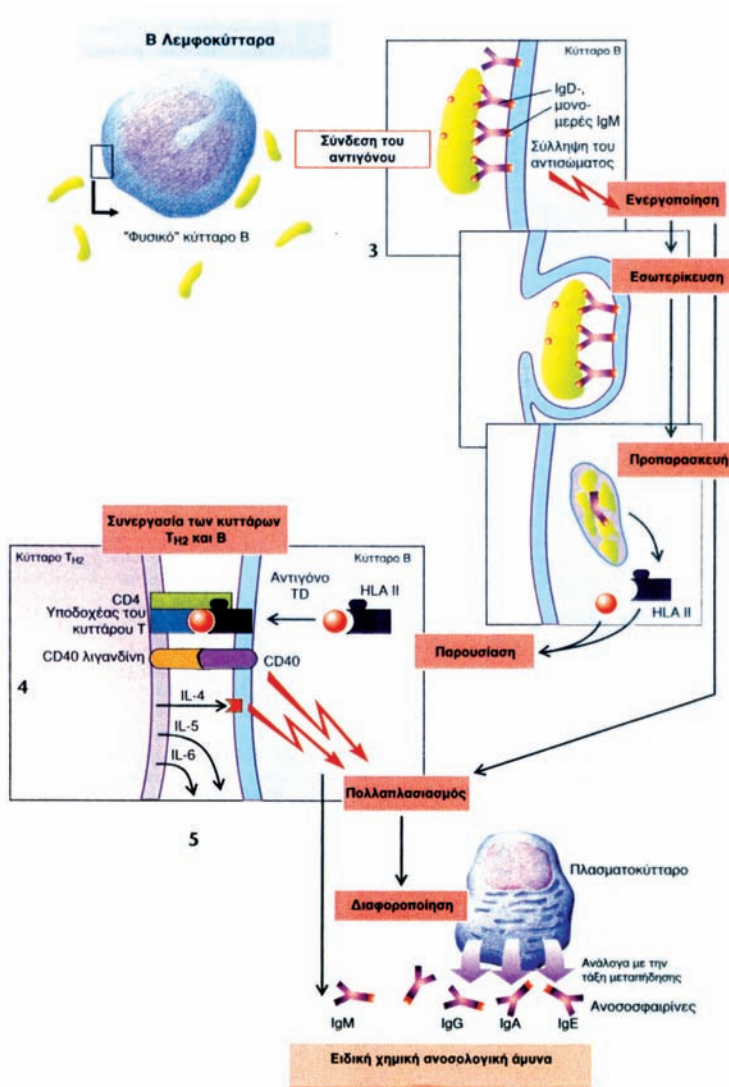
Τα T-λεμφοκύτταρα που είναι υπεύθυνα για την κυτταρική ανοσιακή απόκριση δεν αντιδρούν φυσιολογικά προς αυτόλογα στοιχεία. Στις περιπτώσεις που δεν υφίσταται αυτή η ανοσιακή ανοχή εμφανίζονται οι αυτοάνοσες αντιδράσεις που καταλήγουν στις αυτοάνοσες παθήσεις. Αυτό γίνεται με τη δραστηριοποίηση των αυτοαντιδραστικών T-λεμφοκυττάρων τα οποία συ-

## B. Ειδική ανοσιακή απόκριση



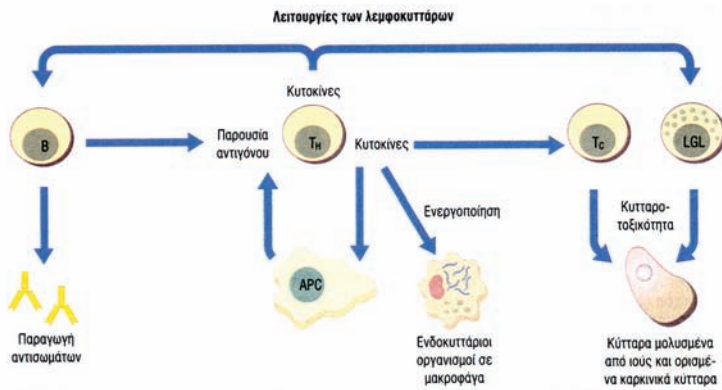
**Εικόνα 2.5:** Σχηματική παράσταση των διαφόρων σταδίων εξέλιξης της ειδικής προσαρμοζόμενης ανοσιακής απόκρισης. Η κινητοποίηση των T και B-λεμφοκυττάρων έχει ως στόχο την εξουδετέρωση του συγκεκριμένου αντιγονικού παράγοντα που προκαλεί την ιστική βλάβη.

Silbernagl St., Lang F.: Εικονογραφημένο εγχειρίδιο Παθοφυσιολογίας. Ιατρικές & Επιστημονικές Εκδόσεις Σιώκη (2002)



υπάρχουν σε λανθάνουσα κατάσταση. Τα ίδια κύτταρα δεν αναγνωρίζουν επίσης ούτε το ελεύθερο αντιγόνο. Διαθέτουν όμως στην επιφάνειά τους TLR-υποδοχείς οι οποίοι ενεργοποιούνται από τα πεπτιδικά ράκη του ξένου αντιγόνου που μεταφέρουν τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα μέσα από σύνθετες διαδικασίες που θα περιγραφούν στη συνέχεια.

Η διέγερση των T-λεμφοκυττάρων επάγει μέσω διαφόρων μεταγραφικών παραγόντων όπως ο NF-κB και ο NF-AT τη μεταγραφή διαφόρων κυτταροκινών, χημειοκινινών και μεσολαβητών της φλεγμονώδους αντίδρασης.



**Εικόνα 2.6: Λειτουργίες των B και T-λεμφοκυττάρων.** Τα B-λεμφοκύτταρα παράγουν αντισώματα, ενώ τα βοηθητικά T-λεμφοκύτταρα (TH: T-Helper) που διεγείρονται από αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APC: Antigen Presenting Cells) και από τα B-λεμφοκύτταρα παράγουν κυτταροκίνες οι οποίες μεθοδεύουν την ανοσιακή απόκριση. Τα μακροφάγα ενεργοποιούνται με σκοπό την εξολόθρευση ενδοκυττάρων μικροοργανισμών. Τα κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα (TC: T Cytotoxic) και τα μεγάλα κοκκώδη λεμφοκύτταρα (LGL: Large Granulo Lymphocytes) αναγνωρίζουν και φονεύουν εκείνα τα κύτταρα του ξενιστή που έχουν επιλεγεί ως στόχος τους.

Page C. et al. *Integrated Pharmacology- Ελληνική έκδοση Ιατρικές Εκδόσεις Π. Πασχαλίδη, Αθήνα (1997)*

Τα T-λεμφοκύτταρα φέρουν, μεταξύ άλλων, στην επιφάνειά τους το αντιγόνο CD28 το οποίο αντιπροσωπεύει στοιχείο συνδιέγερσης. Το τελευταίο διεγείρεται από το B7 μόριο του αντιγονοπαρουσιαστικού κυττάρου. Το βιοχημικό σήμα που παράγεται οδηγεί το T-λεμφοκύτταρο στη σύνθεση, μεταξύ άλλων, της IL-2 και του υποδοχέα της και βοηθεί στη διαμόρφωση της ανοσιακής απόκρισης τύπου Th1.

### Τα B-λεμφοκύτταρα

Τα ώριμα B-λεμφοκύτταρα αντιπροσωπεύουν το 10-15% των περιφερειακών λεμφοκυττάρων του αίματος και το 50% των αντίστοιχων του σπληνός. Τα κύτταρα αυτά είναι υπεύθυνα για τη χυμική ανοσιακή απόκριση. Ενερ-

γοποιούνται βραδέως από τα αντιγόνα αλλά κυρίως από τα Τ-λεμφοκύτταρα μέσω των απελευθερούμενων από αυτά κυτταροκινών και σχηματίζουν αντισώματα.

Φέρουν στην επιφάνειά τους διαμεμβρανικές ανοσοσφαιρίνες (Ig) που δρουν ως υποδοχείς για τα αντιγόνα τα οποία μπορούν και αναγνωρίζουν άθικτα σε αντίθεση με τα Τ-λεμφοκύτταρα. Με τη διέγερση αυτή των υποδοχέων αναπτύσσεται ενδοκυττάριο σήμα μέσα από το σύμπλοκο Ig και των α και β μορίων με τρόπο ανάλογο με εκείνο των Τ-κυττάρων. Η ενεργοποίηση αυτή από τα αντιγόνα βαίνει βραδέως. Επίσης, στην επιφάνειά τους έχουν υποδοχείς οι οποίοι αναγνωρίζουν την Fc περιοχή των μορίων της IgG, καθώς επίσης και υποδοχείς για τα κλάσματα C3d και C3b του ενεργοποιηθέντος συμπληρώματος.

Τα Β-λεμφοκύτταρα έχουν ως κύριο έργο την παραγωγή αντισωμάτων. Μεταξύ των μορφών αδρανοποίησης των βλαπτικών παραγόντων από τα παραγόμενα αντισώματα περιλαμβάνονται η συγκόλληση, η κατακρήμνιση, η ουδετεροποίηση και η λύση. Τα Β-λεμφοκύτταρα έχουν όμως και φαγοκυτταρικές ικανότητες και ικανότητες αντιγονικής επεξεργασίας. Η ικανότητά τους αυτή ενισχύεται από μία ποικιλία κυτταροκινών.

Η διαφοροποίηση των Β-κυττάρων σε κύτταρα που θα συνθέτουν αντισώματα απαιτεί την αναγνώριση των αντιγονικών στοιχείων από τους υποδοχείς-BCR (B-cell Antigen Receptor) που ευρίσκονται στην επιφάνειά τους και οι οποίοι θα περιγραφούν στη συνέχεια.

## **ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΣΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΜΕΜΒΡΑΝΗ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ**

Οι διάφοροι παράγοντες οι οποίοι ενεργοποιούν τα κύτταρα της φλεγμονής διεγείρουν ειδικούς υποδοχείς στην κυτταρική μεμβράνη των τελευταίων. Αποτέλεσμα της διέγερσης αυτής είναι οι διάφορες βιολογικές απαντήσεις των κυττάρων. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται οι διάφορες απαντήσεις από τα λευκοκύτταρα που συνδέονται με τη φλεγμονή όπως η χημειοταξία, η φαγοκυττάρωση, η έκρηξη της αναπνευστικής αλυσίδας και η αποσάρθρωση, καθώς, επίσης, η σύσπαση των ενδοθηλιακών κυττάρων, η προσκόλληση των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο και η διαπίδυσή τους στους υποκείμενους ιστούς. Συγχρόνως και μέσα από πολύπλοκες βιοχημικές οδούς τα μηνύματα έρχονται και στον πυρήνα, όπου μεθοδεύεται η γονιδιακή μεταγραφή και η σύνθεση των πρωτεϊνών εκείνων οι οποίες είναι απαραίτητες για την κινητοποίηση των μηχανισμών της φλεγμονής, την αναχαίτιση του βλαπτικού παράγοντα και την αποκατάσταση της βλάβης.

Παράλληλα τα λεμφοκύτταρα διεγείρονται και παράγουν εξειδικευμένους προς το αντιγόνο κλώνους (2,14,15).

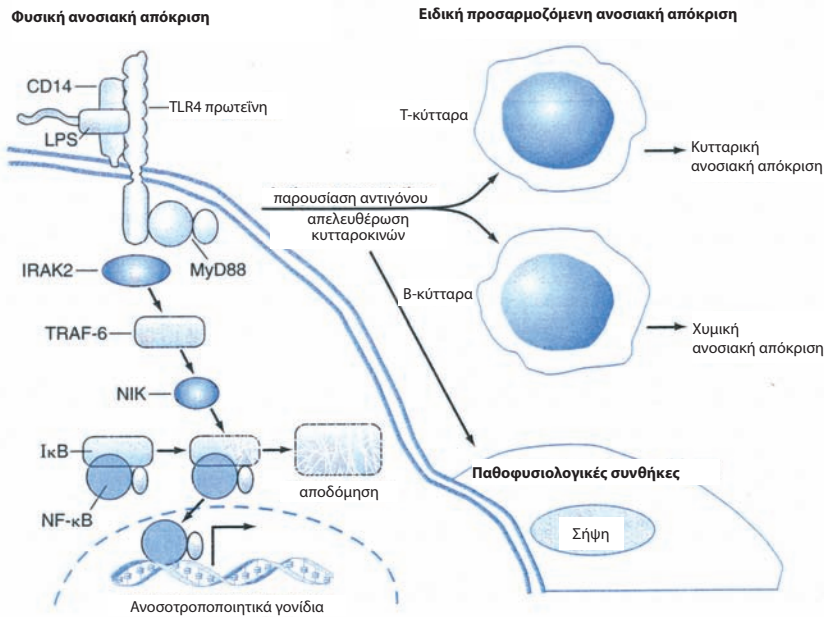
### **Υποδοχείς στα κύτταρα που προάγουν τη φυσική ανοσία**

Τα κύτταρα που μεθοδεύουν τη φυσική ανοσία είναι τα μακροφάγα, τα δενδριτικά, τα ιστιοκύτταρα, τα ουδετερόφιλα και μερικά αρχέγονα Β-κύτταρα όπως τα Β-1 κύτταρα. Λόγω της δυνατότητάς τους να παρουσιάζουν αντιγόνα και να απελευθερώνουν διάφορες κυτταροκίνες, τα κύτταρα αυτά αποτελούν έναν κρίκο σύνδεσης της φυσικής με την προσαρμοζόμενη ανοσία.

Η ταχεία πρώτη γραμμή απάντηση στα παθογόνα ερεθίσματα διαμεσολαβείται από έναν αριθμό υποδοχέων οι οποίοι ονομάζονται PRRs (Patern Recognition Receptors: Υποδοχείς αναγνώρισης προτύπου). Υπάρχει η τάση οι υποδοχείς PRRs να διακρίνονται σε εκείνους που σηματοδοτούν, σε εκείνους που εκκρίνονται και σε εκείνους που ευρίσκονται ενδοκυτταρικά. Από τους υποδοχείς PRRs, οι CD14 αναγνωρίζουν τους LPS που υπάρχουν σε όλα τα αρνητικά κατά Gram μικρόβια. Τα τμήματα των παθογόνων προς τα οποία οι PRRs συνδέονται ονομάζονται PAMPs (Pathogen Associated Molecular Patterns: Μοριακά πρότυπα συνδεδεμένα με παθογόνο) και σε αυτά περιλαμβάνονται οι LPS, το λιποτεichoϊκό οξύ (LTA: lipoteichoic acid), φυσικοί υδρογονάνθρακες και μικροβιακό DNA (16).

Οι LPS ειδικά για τα αρνητικά κατά Gram μικρόβια, αλλά και το LTA που εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό στα θετικά κατά Gram μικρόβια αποτελούν τα κυρίως δομικά και σταθεροποιητικά στοιχεία του κυτταρικού τοιχώματος και των κυτταρικών μεμβρανών των μικροβίων αυτών. Διεγείροντας τους υποδοχείς τους στην επιφάνεια των μονοκυττάρων και των μακροφάγων προάγουν τη σύνθεση και την απελευθέρωση NO και των φλεγμονογόνων κυτταροκινών IL-1, IL-6 και TNF- $\alpha$ . Σήμερα είναι παραδεκτό ότι οι υποδοχείς TLR, οι οποίοι περιγράφονται στη συνέχεια, αποτελούν τους σηματοδοτούντες υποδοχείς των LPS, των LTA και άλλων μικροβιακών συστατικών (13).

Ο υποδοχέας CD14 ευρίσκεται αγκυροβολημένος στην κυτταρική μεμβράνη των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων μέσω μιας GPI (Glycosylphosphatidylinositol: γλυκοζυλοφωσφατιδυλοϊνοσιτόλη) και δεν έχει διαμεμβρανικό τμήμα. Ως εκ τούτου δεν μπορεί να μεταδώσει ενδοκυττάρια διέγερση. Μετά τη σύνδεση του LPS με τον υποδοχέα CD14 ακολουθεί η σύνδεση του συμπλόκου αυτού με μία επιφανειακή πρωτεΐνη, τη LBP (Lipopolysaccharide Binding Protein: Πρωτεΐνη συνδεδεμένη με λιποπολυσακχαρίδες). Το σύμπλοκο αυτό ενώνεται με ένα είδος πρωτεϊνών-υποδοχέων που ονομάζονται Toll και ευρίσκονται στην επιφάνεια των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων, όπως είναι τα μακροφάγα. Το νέο σύμπλοκο παριστά τους υποδοχείς TLR (Toll like Receptors). Οι υποδοχείς TLRs ανήκουν



**Εικόνα 2.7: Ρόλος των TLR (Toll Like Receptors) στη ρύθμιση της απάντησης των μακροφάγων στους μικροβιακούς λιποπολυσακχαρίδες (LPS: Lipopolysaccharide).** Οι LPS που αποτελούν συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος των αρνητικών κατά gram μικροβίων συνδέονται με την πρωτεΐνη CD14 που εκφράζεται στην κυτταρική μεμβράνη των μακροφάγων και προς την οποία έχουν μεγάλη συγγένεια καθώς, επίσης και με την πρωτεΐνη TLR4 η οποία είναι ένας διαμεμβρανικός υποδοχέας. Οι συνδέσεις αυτές οδηγούν στην ενεργοποίηση του υποδοχέα-TLR4 και στην έναρξη ενός βιοχημικού ενδοκυττάριου καταρράκτη. Αυτός αρχίζει με τη στράτευση του μεταγραφικού παράγοντα MyD88 και την ενεργοποίηση της κινάσης IRAQ2 (Interleukin-1 Receptor Associated Kinase 2) που ενεργοποιεί με τη σειρά της τον παράγοντα TRAF-6 (Tumor necrosis factor Receptor Associated Factor 6). Ακολουθεί η διέγερση της κινάσης NIK (NF-κB Inducing Kinase) η οποία φωσφορυλιώνει την πρωτεΐνη IκB, η οποία στη συνέχεια αποδομείται, με αποτέλεσμα να απελευθερώνεται ο μεταγραφικός παράγοντας NF-κB. Στη συνέχεια ο παράγοντας αυτός περνά στον πυρήνα όπου προάγει τη μεταγραφή ανοσοτροποποιητικών γονιδίων που κωδικοποιούν κυτταροκίνες και συνδιεγερτικά μόρια. Τα συντιθέμενα προϊόντα απελευθερώνονται από τα μακροφάγα και δρουν στα T και τα B-λεμφοκύτταρα, ώστε να ξεκινήσει η ειδική προσαρμοζόμενη ανοσιακή απάντηση. *Harrison's Principles of Internal Medicine (2001)*

στους υποδοχείς PRRs και αναγνωρίζουν μια μεγάλη ποικιλία από PAMPs. Με το μηχανισμό αυτό επιτυγχάνεται η δημιουργία ενδοκυττάριου σήματος (16).

Η διέγερση του υποδοχέα TLR4 πυροδοτεί ενδοκυττάριο σήμα που προάγει την προφλεγμονώδη έκφραση των γονιδίων. Η βιοχημική οδός που ενεργοποιείται περιλαμβάνει τη στράτευση ενός μεταγραφικού παράγοντα που ονομάζεται MyD88, την κινάση 2 η οποία συνδέεται με τον υποδοχέα

της IL-1 (IRAK2: Interleukin –1 Associated Kinase 2) και την εμπλοκή του συνδεδεμένου με τον υποδοχέα του TNF παράγοντα 6 (TRAF-6: Tumor necrosis factor Receptor –Associated Factor 6), καθώς και της κινάσης η οποία επάγει τον μεταγραφικό παράγοντα NF-κB (NIK: NF-κB Inducing Kinase). Η κινάση αυτή φωσφορυλιώνει την IκB η οποία διασπάται ταχύτατα και απελευθερώνεται έτσι ο παράγοντας NF-κB ο οποίος περνά στον πυρήνα. Στη συνέχεια, ο μεταγραφικός αυτός παράγοντας συνδέεται με ειδικά αλληλόμορφα στον προαγωγέα των γονιδίων τα οποία σχετίζονται με τη ρύθμιση του ανοσοποιητικού μηχανισμού. Τα προϊόντα των γονιδίων αυτών, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται κυτταροκίνες και συν-διεγερτικά μόρια, δρουν στα T και στα B-λεμφοκύτταρα και διεγείρουν την προσαρμοζόμενη ανοσιακή απόκριση (4).

Ορισμένα λευκοκύτταρα έχουν στην επιφάνειά τους τον υποδοχέα FPR (Formyl Peptide Receptor). Πρόκειται για έναν επταδιαμεμβρανικό υποδοχέα που απαντά στην κυτταρική μεμβράνη των φαγοκυτταρικών λευκοκυττάρων, όπως τα κοκκιοκύτταρα και τα μακροφάγα, και διεγείρεται από μικροβιακά ολιγοπεπτίδια. Με τη διέγερση αυτή παρατηρείται μια ανακατανομή του κυτταροσκελετού της ακτίνης που είναι απαραίτητη για να μπόρουν τα λευκοκύτταρα αυτά να ακολουθήσουν το χημειοτακτικό ρεύμα προς την ιστική βλάβη. Τα ίδια τα μικροβιακά ολιγοπεπτίδια διεγείρουν μέσω των υποδοχέων αυτών τα λευκοκύτταρα στο να παράγουν οξειδωτικές ρίζες και να εκκρίνουν πρωτεολυτικά ένζυμα. Η λιποκορτίνη 1 ή ανεξίνη 1 και η λιποξίνη A4 αναστέλλουν τη μετανάστευση των κυττάρων αυτών διεγείροντας αυτό τον υποδοχέα. Ειδικότερα, η λιποκορτίνη 1, της οποίας τη γονιδιακή έκφραση προάγουν τα γλυκοκορτικοειδή, θεωρείται ως ο ενδογενής αγωνιστής των υποδοχέων αυτών που τους απευαισθητοποιεί έναντι των μικροβιακών ολιγοπεπτιδίων. Επίσης, συνδέεται με τον υποδοχέα ALXR της λιποξίνης A<sub>4</sub> με ανάλογη ανασταλτική δράση. Παράλληλα, η λιποκορτίνη αποτελεί και σημείο προσέλκυσης των φαγοκυττάρων για τα φλεγμονώδη κύτταρα που έχουν υποστεί απόπτωση (17,18).

### **Υποδοχείς των κυτταροκινών**

Οι υποδοχείς των χημειοκινών στα λευκοκύτταρα και οι υποδοχείς των διαφόρων αγγειοδραστικών ουσιών στα ενδοθηλιακά κύτταρα ανήκουν στους επταδιαμεμβρανικούς υποδοχείς που συνδέονται με πρωτεΐνη G.

Οι χημειοκίνες αποτελούν το είδος εκείνο των κυτταροκινών που προάγουν την ενεργοποίηση και τη μετανάστευση των λευκοκυττάρων διαμέσου του ενδοθηλίου προς τους ιστούς. Ειδικότερα από τους υποδοχείς των χημειοκινών, οι CXCR1 και CXCR2 ευρίσκονται στα ουδετερόφιλα. Τα ηωσινόφιλα παρουσιάζουν μεγάλο αριθμό υποδοχέων CCR3 που απα-



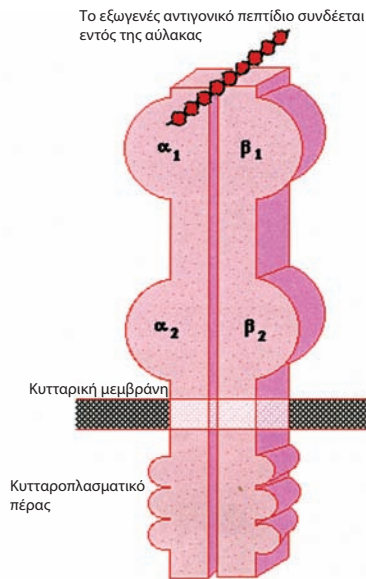
ντούν επίσης και στα βασεόφιλα. Τα τελευταία έχουν και υποδοχείς CXCR2. Τα μονοκύτταρα έχουν μόνο υποδοχείς CXCR2. Οι αγγειοδραστικές ουσίες ρυθμίζουν τον τόνο των ενδοθηλιακών κυττάρων και επηρεάζουν θετικά ή αρνητικά τη σύνθεση από αυτά ουσιών που ρυθμίζουν τον αγγειακό τόνο και την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων.

Η διέγερση των επταδιαμεμβρανικών υποδοχέων οδηγεί είτε στην ενεργοποίηση ενζυμικών συστημάτων στην κυτταρική μεμβράνη και στην παραγωγή ουσιών οι οποίες εισέρχονται στο κυτταρόπλασμα και δρουν ως δευτεροί αγγελιαφόροι είτε στη διάνοιξη διαύλων ιόντων στην κυτταρική μεμβράνη και στην είσοδο των τελευταίων στο κυτταρόπλασμα. Οι μηχανισμοί αυτοί οδηγούν σε αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$  στο κυτταρόπλασμα και στη διέγερση του κυττάρου. Ακολουθεί η ενεργοποίηση κινασών οι οποίες μεταφέρουν φωσφορικές ρίζες και φωσφορυλιώνουν πρωτεΐνες, οι οποίες και μεθοδεύουν τη βιολογική απάντηση του κυττάρου (19).

Διαφορετικοί είναι οι υποδοχείς των προφλεγμονωδών ή φλεγμονογόνων κυτταροκινών οι οποίες ενεργούν ως μεσολαβητές που προάγουν την εξέλιξη της οξείας φάσης της φλεγμονής ως απάντηση σε παράγοντες που σχετίζονται με τη μόλυνση και τον τραυματισμό, και διαφορετικοί οι υποδοχείς των ανοσορυθμιστικών κυτταροκινών που σχετίζονται με την ενεργοποίηση, την αύξηση και τη διαφοροποίηση των λευκοκυττάρων. Πρόκειται για διαμεμβρανικούς υποδοχείς οι οποίοι παρουσιάζουν ένα εξωκυττάριο τμήμα το οποίο αναγνωρίζει την κυτταροκίνη, ένα διαμεμβρανικό τμήμα και ένα ενδοκυττάριο τμήμα το οποίο κινητοποιεί ενζυμικές αντιδράσεις.

Υπάρχουν τέσσερις κατηγορίες αυτού του τύπου υποδοχέα των κυτταροκινών: η υπεροικογένεια της Ig IL, η οικογένεια υποδοχέων τύπου αιμοποιητίνης, η οικογένεια υποδοχέων της INF και η οικογένεια υποδοχέων του TNF (3).

Στην περίπτωση της φλεγμονογόνου κυτταροκίνης TNF- $\alpha$ , η βιοχημική ενδοκυττάρια οδός που αναπτύσσεται καταλήγει, μεταξύ άλλων, στην ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων όπως ο NF- $\kappa$ B, ο οποίος με τη σειρά του επάγει την έκφραση διαφόρων κυτταροκινών, ενζύμων και μορίων προσκόλλησης που έχουν σχέση με την κινητοποίηση των μηχανισμών της φλεγμονής. Στην περίπτωση της IL-1, οι βιοχημικές ενδοκυττάρια οδοί οδηγούν στην ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα AP-1 (Activated Protein-1). Η AP-1 προάγει τη μεταγραφή γονιδίων τα οποία διέπουν τον πολλαπλασιασμό, τη φλεγμονή και την απόπτωση των κυττάρων. Μεταξύ άλλων, τα γονίδια αυτά κωδικοποιούν αυξητικούς παράγοντες, πρωτεΐνες στρώματος και πρωτεΐνες της φλεγμονής, όπως είναι οι κυτταροκίνες, η COX-2, η PLA<sub>2</sub>, η NOS και άλλες. Στην περίπτωση των υποδοχέων τύπου αι-



**Εικόνα 2.8:** Σχηματική παράσταση χαρακτηριστικού τύπου υποδοχέα TCR των CD4 T-λεμφοκυττάρων. Διακρίνονται το ετεροδιμερές σύμπλοκο α-β του υποδοχέα TCR και το σημείο ένωσης με το αντιγόνο.

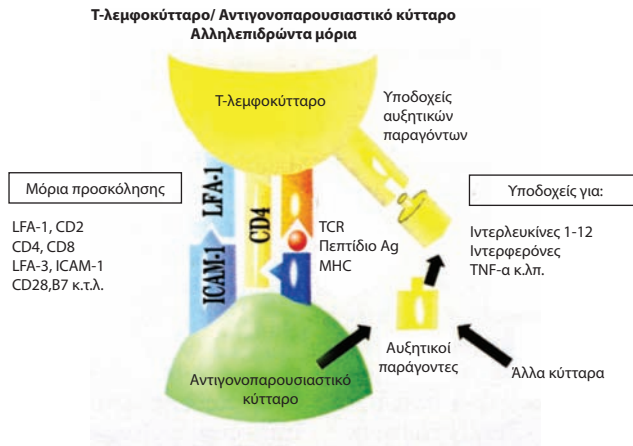
*Internet - Medline (2005)*

μοποιητίνης, χαρακτηριστική είναι η ενεργοποίηση των JAK (Janus Tyrosine Kinase) τυροσινικών κινασών που φωσφορυλιώνουν τους υποδοχείς στα υπόλοιπα τυροσίνης και επιτρέπουν σε μόρια σήματος να ενωθούν με αυτούς. Μόρια αυτού του είδους είναι τα SHC που μεταδίδουν το σήμα του υποδοχέα στην ενδοκυττάρια βιοχημική οδό της MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase). Επίσης οι JAK ενεργοποιούν και άλλα υποστρώματα όπως οι STAT (Signal Transducers and Activators of Transcription) μεταγραφικοί παράγοντες, διαδικασία που αφορά την εξέλιξη των λεμφοκυττάρων (3,15).

### **Υποδοχείς των λεμφοκυττάρων**

Τόσο τα Τ όσο και τα Β-λεμφοκύτταρα εκφράζουν επιφανειακούς υποδοχείς για τα αντιγόνα. Κάθε ώριμο κύτταρο διαθέτει χιλιάδες υποδοχείς μίας και μοναδικής εξειδίκευσης με μία θέση σύνδεσης για ένα συγκεκριμένο επιτόπιο. Οι υποδοχείς αυτοί διαφέρουν από τα αντισώματα που παράγονται από τα Β-λεμφοκύτταρα στο ότι δεν μπορούν να συνδεθούν με ελεύθερα αντιγόνα (12,20-22).

Όλα τα Τ-λεμφοκύτταρα που είναι υπεύθυνα για την κυτταρική ανοσιακή απόκριση εκφράζουν ένα επιφανειακό μόριο το οποίο ονομάζεται CD3. Η έκφραση αυτού του CD3 είναι χαρακτηριστική για το είδος αυτό των κυττάρων. Τα κύτταρα αυτά διαθέτουν στην επιφάνειά τους υποδοχείς TCR (T-Cell



**Εικόνα 2.9: Μηχανισμοί αλληλεπιδράσεων μεταξύ των T-λεμφοκυττάρων και των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων.** Υπάρχουν τρεις τρόποι για το είδος αυτό της αλληλεπίδρασης. **Πρώτον.** Ειδικοί υποδοχείς TCR (T-cell receptor) στα T-λεμφοκύτταρα αναγνωρίζουν το ξένο αντιγόνο με τη μορφή του αντιγονικού (Ag) σε φάση εξέλιξης πεπτιδίου, το οποίο ευρίσκεται συνδεδεμένο στη σχισμή των μορίων του μείζονος συστήματος ιστοσυμβατότητας (MHC: Major Histocompatibility Complex) του αντιγονοπαρουσιαστικού κυττάρου. **Δεύτερον.** Μία σειρά μορίων προσκόλλησης στα T-λεμφοκύτταρα συνδέονται με τους προσδέτες τους στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα. Αυτά περιλαμβάνουν τα CD4 και τα CD8, τα οποία είναι συν-υποδοχείς για τα μόρια του MHC στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα, και τα CD28, τα οποία αλληλεπιδρούν με τον προσδέτη B7 των ίδιων κυττάρων ώστε να προκαλείται συνδιέγερση. **Τρίτον.** Τα T-λεμφοκύτταρα εκφράζουν υποδοχείς για ποικίλους παράγοντες οι οποίοι ρυθμίζουν την ανάπτυξη και τη διαφοροποίησή τους, όπως η ιντερλευκίνη-2 (IL-2). Μερικοί από αυτούς παράγονται από άλλα διεγερμένα T-λεμφοκύτταρα και δημιουργούν τις βάσεις για βοήθεια και συνεργασία. Παρόλο που η σύνδεση με τον υποδοχέα των T-λεμφοκυττάρων δημιουργεί το πρωτογενές σήμα που θα διεγείρει τα T-λεμφοκύτταρα, το αποτέλεσμα το οποίο μπορεί να είναι είτε μια απάντηση με μορφή πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης είτε η μετάπτωση σε κατάσταση αναστολής ανταποκρίσεως και επαγωγής ανοχής περιφερειακού τύπου, εξαρτάται και από άλλους παράγοντες. Αυτοί είναι τα σήματα από τα μόρια προσκόλλησης και τους υποδοχείς των αυξητικών παραγόντων. Τα σήματα αυτά θα προσδιορίσουν αν η αναγνώριση αυτή του αντιγόνου θα έχει συνέχεια.

*Trends Pharmacol. Sci. 14: 143-154 (1993)*

Receptor) οι οποίοι ενεργοποιούνται από τα πεπτιδικά ράκη του ξένου αντιγόνου που μεταφέρουν τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα. Οι TCR-υποδοχείς των T-λεμφοκυττάρων προσδιορίζουν και την αντιγονική εξειδίκευση για το κάθε T-λεμφοκύτταρο. Οι υποδοχείς αυτοί καθιστούν το κύτταρο αυτό ικανό να συνδέεται με το αντιγόνο και, αν υπάρχουν κατάλληλα επιρροσθητά σήματα, να ενεργοποιείται και να απαντά. Η έλλειψη των τελευταίων οδηγεί σε ανολογική ανοχή.

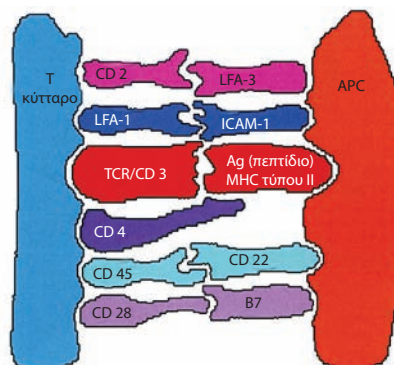
Κάθε TCR-υποδοχέα αποτελείται από ένα ετεροδιμερές πολυπεπτιδικό σύμπλοκο. Υπάρχουν τεσσάρων ειδών πολυπεπτίδια, τα οποία σχηματίζουν δύο διαφορετικά ετεροδιμερή. Το ετεροδιμερές α-β χαρακτηρίζει τον υποδοχέα TCR-2 και το ετεροδιμερές γ-δ χαρακτηρίζει τον υποδοχέα TCR-1.

Οι υποδοχείς αυτοί ομοιάζουν γενετικά με τις ανοσοσφαιρίνες στην πρωτεύουσα αλληλουχία, στη γονιδιακή οργάνωση και στους τρόπους αναδιάρθρωσης. Η μεγάλη πλειοψηφία των Τ-λεμφοκυττάρων στην περιφέρεια εκφράζει τους υποδοχείς TCR –2 (20-22).

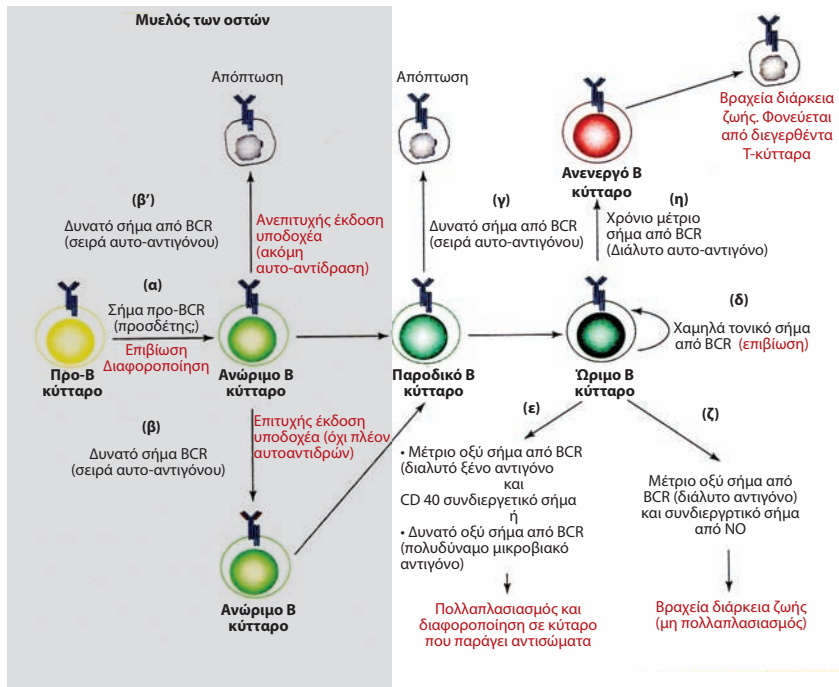
Η ποικιλία των TCR-υποδοχών που χαρακτηρίζει και την εξειδίκευση των Τ-λεμφοκυττάρων οφείλεται σε μια διαδικασία που ονομάζεται «γονιδιακή αναδιάρθρωση». Κατά την εξέλιξη της ανοσιακής απόκρισης, τα γονίδια των Τ και Β-λεμφοκυττάρων υφίστανται μια αναδιαμόρφωση του DNA, ώστε να δημιουργηθεί ο γενετικός εκείνος κώδικας που θα προσδιορίζει κάθε είδους κύτταρο. Οι νέες αυτές αλληλουχίες του DNA κωδικοποιούν πλέον τις ανοσοσφαιρίνες και τους TCR-υποδοχείς που θα αναγνωρίζουν το κάθε αντιγόνο.

Σήματα που εκπορεύονται από το MHC, το οποίο συνδέεται με τους TCR-υποδοχείς των Τ-λεμφοκυττάρων και τους συνυποδοχείς CD4/CD8, ρυθμίζουν τη διαφοροποίηση των προδρόμων μορφών των κυττάρων αυτών στον θύμο αδένα προς CD4 ή CD8 Τ-λεμφοκύτταρα. Τα ώριμα κύτταρα που θα προκύψουν εκφράζουν μόνο το CD4 (σύνδεση MHC κατηγορίας II) ή το CD8 (σύνδεση MHC κατηγορίας I) συνυποδοχέα που συμπληρώνει την εξειδίκευση ως προς την κατηγορία MHC του TCR-υποδοχέα του Τ-λεμφοκυττάρου. Ειδικότερα για τα ώριμα CD8 Τ-λεμφοκύτταρα, ο συνυποδοχέας ανήκει στην οικογένεια των Notch και χαρακτηρίζεται ως Notch-1 (12,20-22).

Οι TCR-υποδοχείς των Τ-λεμφοκυττάρων αναγνωρίζουν τα αντιγονικά θραύσματα, όταν αυτά απλώνονται στο MHC στην επιφάνεια του αντιγονοπαρουσιαστικού κυττάρου και η αναγνώριση αυτή γίνεται με την επαφή κυττάρου προς κύτταρο. Στην περίπτωση των CD4 λεμφοκυττάρων, η ανα-



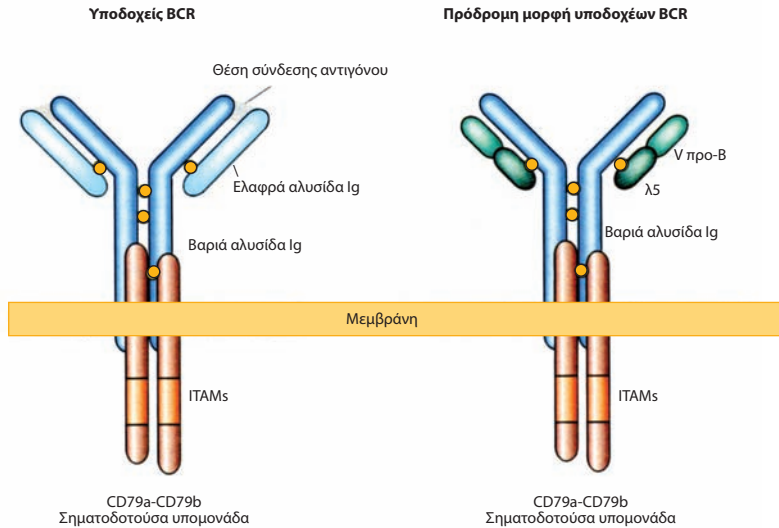
**Εικόνα 2.10:** Σχηματική παράσταση της επαφής του Τ-λεμφοκυττάρου και του αντιγονοπαρουσιαστικού κυττάρου. Διακρίνονται οι αναπτυσσόμενες συνδέσεις μεταξύ των κυττάρων αυτών. *Medline-Internet (2005)*



**Εικόνα 2.11: Το σήμα από τον υποδοχέα-BCR (B-cell Antigen Receptor) ρυθμίζει την επιβίωση, ενεργοποίηση και εξέλιξη των B- λεμφοκυττάρων.** Τα προ-B λεμφοκύτταρα εκφράζουν στην επιφάνειά τους μια πρόδρομη μορφή του υποδοχέα – BCR, τον υποδοχέα προ- BCR. Παρόλο που υπάρχει διχονομία στο κατά πόσο ο υποδοχέας προ- BCR έχει προσδέτη, εντούτοις είναι απαραίτητη προϋπόθεση η ύπαρξη του υποδοχέα προ- BCR και η ανάπτυξη βιοχημικού σήματος για την επιβίωση των προ- B λεμφοκυττάρων, την ανακατανομή των γονιδίων της ελαφράς αλυσίδας ανοσοσφαιρίνης (Ig) και τη διαφοροποίηση των κυττάρων αυτών προς τις ώριμες μορφές. *Trends Pharmacol. Sci.* 23:316-324 (2002)

γνώριση γίνεται από το MHC κατηγορίας II, ενώ στην περίπτωση των CTL λεμφοκυττάρων η αναγνώριση γίνεται από το MHC κατηγορίας I. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται «ως προς MHC περιορισμός των αποκρίσεων των T-λεμφοκυττάρων: MHC restriction of T-lymphocyte responses».

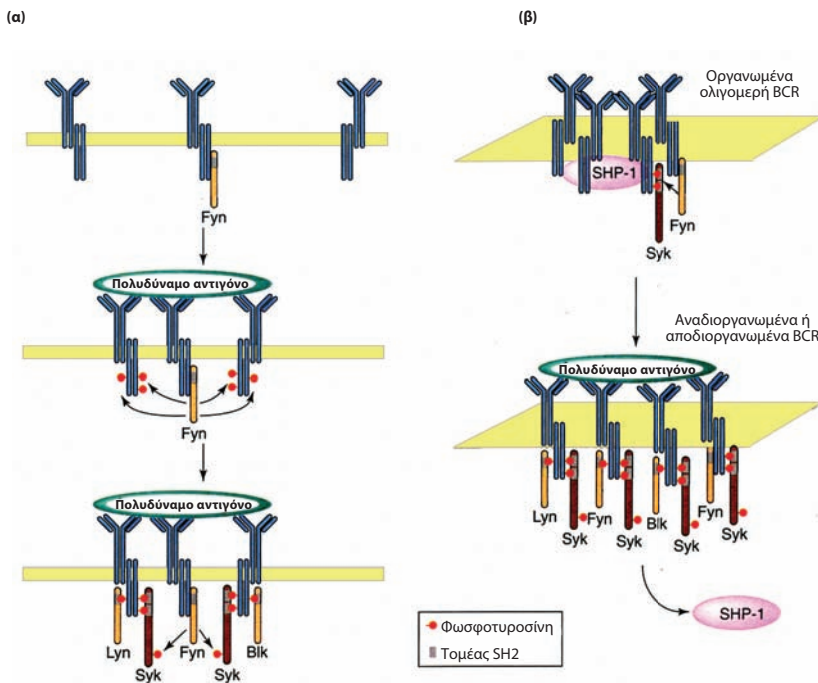
Πιο συγκεκριμμένα, τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα αποδίδουν πεπτιδικά ράκη προερχόμενα από τις ξένες πρωτεΐνες που έχουν διασπάσει σφηνώνοντάς τα στη θέση αναγνώρισης του αντιγόνου στο επιφανειακό μόριο του MHC κατηγορίας I ή II. Από το σημείο αυτό, τα πεπτιδικά ράκη ενώνονται με τις αλυσίδες TCRαβ ή TCRγδ των αντιγονικών TCR-υποδοχέων των αντιδρώντων T-κυττάρων. Τα μόρια CD4 δρουν ως προσφυτικοί παράγοντες και, συνδεόμενα άμεσα με το MHC κατηγορίας II, σταθεροποιούν την αλληλεπίδραση του TCR με το πεπτιδικό αντιγόνο. Το αυτό πράττουν και τα μόρια CD8 με το αντίστοιχο MHC κατηγορίας I. Από τη στιγμή που η



**Εικόνα 2.12: Δομή των BCR-υποδοχέων (B-cell Antigen Receptor) στα Β-λεμφοκύτταρα και της πρόδρομης μορφής αυτών στα άωρα Β-λεμφοκύτταρα .** Η διαφοροποίηση των Β-κυττάρων σε κύτταρα που θα συνθέτουν αντισώματα απαιτεί την αναγνώριση των αντιγονικών στοιχείων από τους BCR-υποδοχείς (B-cell Antigen Receptor) που ευρίσκονται στην επιφάνειά τους. Κάθε υποδοχέας αποτελείται από μία υπομονάδα που συνδέεται με το αντιγόνο και από μία ενδοκυττάρια υπομονάδα η οποία πυροδοτεί το σήμα. Η υπομονάδα που συνδέεται με το αντιγόνο είναι μία διαμεμβρανική ανοσοσφαιρίνη της οποίας η ελαφρά και η βαριά αλυσίδα σχηματίζουν τη θέση σύνδεσης του αντιγόνου. Οι δισουλφιδικοί δεσμοί αναπαριστώνται με κίτρινους κύκλους. Υπάρχει διαφοροποίηση μεταξύ των δύο μορφών του υποδοχέα που αφορά τις ελαφρές αλυσίδες. Στην πρόδρομη μορφή απουσιάζουν οι ελαφρές αλυσίδες ανοσοσφαιρίνης (Ig) . Υπάρχουν όμως τα υποκατάστατα μέρη λ5 και V<sub>pre-B</sub> της ελαφράς αλυσίδας. Η υπομονάδα που πυροδοτεί το ενδοκυττάριο σήμα αποτελείται από τα CD79a και CD79b που περιέχουν ITAMs. Ενώ στον συνολικό πληθυσμό των Β-κυττάρων υπάρχουν εκατομμύρια εξειδικεύσεις για αντιγόνα, σε κάθε συγκεκριμένο Β-κύτταρο όλοι οι υποδοχείς BCR έχουν ομοιόμορφες θέσεις σύνδεσης του αυτού αντιγόνου. *Trends Pharmacol.Sci. 23:316-324 (2002)*

σύνδεση θα σταθεροποιηθεί, αναπτύσσονται βιοχημικά σήματα τα οποία επάγουν στον πυρήνα τα γονίδια εκείνα που είναι απαραίτητα για τη μεταγραφή των ουσιών που ρυθμίζουν τη μεγάλη ποικιλία λειτουργιών των Τ-λεμφοκυττάρων. Οι λειτουργίες αυτές είναι ειδικά προσανατολισμένες προς το αντιγόνο με σκοπό την απενεργοποίησή του ή την εξουδετέρωσή του. Απαραίτητα μόρια για την ανάπτυξη των βιοχημικών σημάτων είναι τα ITAMs (Immunoreceptor Tyrosin Activation Motifs: Επαναλαμβανόμενες ενόητες ενεργοποίησης της τυροσίνης των ανοσοϋποδοχέων).

Η διαφοροποίηση των Β-κυττάρων σε κύτταρα που θα συνθέτουν αντισώματα απαιτεί, όπως ήδη έχει αναφερθεί, την αναγνώριση των αντιγονικών στοιχείων από τους BCR-υποδοχείς που ευρίσκονται στην επιφάνειά τους (12,20-23).



**Εικόνα 2.13: Πυροδότηση του βιοχημικού σήματος μετά τη διέγερση των BCR-υποδοχέων (B-cell Antigen Receptor) στα Β-λεμφοκύτταρα .** Κατά τη φάση ηρεμίας των Β-λεμφοκυττάρων, μερικοί υποδοχείς-BCR ευρίσκονται συνδεδεμένοι με τις κινάσες Src με τρόπο ανεξάρτητο της φωσφοτυροσίνης. Η διέγερση των BCR-υποδοχέων από το αντιγόνο ενεργοποιεί τους τελευταίους οι οποίοι υφίστανται κατ' άλλους μεν ως πολυμερή σύμπλοκα κατ' άλλους δε μεμονωμένοι και με τη διέγερση συμπλησιάζουν ο ένας τον άλλο. Με την ενεργοποίηση των υποδοχέων αυτών απομακρύνεται μία ανασταλτική πρωτεΐνη SHP-1 (Scr Homology 2 domain-containing Protein tyrosine phosphatase-1). Ακολουθεί η φωσφορυλίωση των ITAMs (ερυθρό) πάνω στα υπόλοιπα τυροσίνης μέσα από τα SH2 τμήματά τους (γκρι), γεγονός που προκαλεί τη στράτευση και ενεργοποίηση των κινάσων Fyn, Lyn και Blk που ανήκουν στην οικογένεια των τυροσινικών κινάσων Src. Οι τελευταίες φωσφορυλιώνουν τις πρωτεΐνες που ελέγχουν τις βιοχημικές οδούς των BCR-υποδοχέων. Στο τμήμα (α) της εικόνας αναπαρίσταται ο μηχανισμός αυτός, όταν οι υποδοχείς-BCR είναι μεμονωμένοι, και στο τμήμα (β) αναπαρίσταται ο μηχανισμός, όταν οι υποδοχείς-BCR ευρίσκονται με τη μορφή ολιγομερών.

*Trends Pharmacol.Sci. 23:316-324 (2002)*

Κάθε υποδοχέας BCR αποτελείται από μία υπομονάδα που συνδέεται με το αντιγόνο και μία ενδοκυττάρια υπομονάδα η οποία πυροδοτεί το σήμα. Η υπομονάδα που συνδέεται με το αντιγόνο είναι μία διαμεμβρανική ανοσοσφαιρίνη της οποίας η ελαφρά και η βαριά αλυσίδα σχηματίζουν τη θέση σύνδεσης του αντιγόνου. Η υπομονάδα που πυροδοτεί το ενδοκυττάριο σήμα αποτελείται από τα CD79a και CD79b που περιέχουν ITAMs. Ενώ στον συνολικό πληθυσμό των Β-κυττάρων υπάρχουν εκατομμύρια εξειδικεύσεις

για αντιγόνα, σε κάθε συγκεκριμένο Β-κύτταρο όλοι οι υποδοχείς BCR έχουν μοιόμορφες θέσεις σύνδεσης του αυτού αντιγόνου (23).

Τα σήματα που εκπορεύονται από τους BCR-υποδοχείς δεν μεθοδεύουν μόνο την παραγωγή αντισωμάτων, αλλά μεθοδεύουν επίσης μέσα από πολύπλοκους μηχανισμούς την εξέλιξη, την επιβίωση αλλά και την απομάκρυνση των Β-κυττάρων που αναγνωρίζουν αυτο-αντιγόνα, ώστε να αποφεύγεται η πρόκληση αυτοάνοσων παθήσεων (23).

Η διέγερση των BCR-υποδοχέων από το αντιγόνο ενεργοποιεί τους τελευταίους οι οποίοι υφίστανται κατ' άλλους μεν ως πολυμερή σύμπλοκα κατ' άλλους δε μεμονωμένοι και με τη διέγερση συμπλησιάζουν ο ένας τον άλλο. Με την ενεργοποίηση των υποδοχέων αυτών απομακρύνεται μία ανασταλτική πρωτεΐνη SHP-1 (Scr Homology 2 domain-containing Protein tyrosine phosphatase-1). Ακολουθεί η φωσφορυλίωση των ITAMs πάνω στα υπόλοιπα τυροσίνης, γεγονός που προκαλεί τη στράτευση και ενεργοποίηση των κινασών Fyn, Lyn και Blk που ανήκουν στην οικογένεια των τυροσινικών κινασών Src. Οι τελευταίες φωσφορυλιώνουν τις πρωτεΐνες που ελέγχουν τις βιοχημικές οδούς των BCR-υποδοχέων. Παράλληλα, οι BCR-υποδοχείς μεταφέρονται σε λιπιδικές νησίδες της κυτταρικής μεμβράνης που περιέχουν γλυκοσφιγκολιπίδια, χοληστερόλη και ακετυλιωμένες πρωτεΐνες, και προάγουν τη στράτευση κυτταροπλασματικών ενζύμων τα οποία δημιουργούν σήματα στην κυτταρική μεμβράνη. Οι βιοχημικές αυτές οδοί σήματος ελέγχονται από την κινάση PI3K (Phosphatidylinositol 3-kinase), τη φωσφολιπάση PLC- $\gamma$ 2 (Phospholipase C- $\gamma$ 2) και τις GTPάσες Ras, Rac1 και Rap1. Η οδός που ενεργοποιείται από την PI3K καταλήγει, μεταξύ άλλων, σε ενεργοποίηση της πρωτεΐνης Akt η οποία έχει αντιαποπτωτικές ενέργειες και προάγει την επιβίωση των Β-κυττάρων και τη διέγερση του μεταγραφικού παράγοντα NF- $\kappa$ B, του οποίου ο ρόλος στην ανάπτυξη της φλεγμονής είναι γνωστός. Επιπλέον ο NF- $\kappa$ B ελέγχει όμως στα Β-κύτταρα τα γονίδια c-Myc και Pim-1 που προάγουν την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων αυτών. Η οδός που ενεργοποιείται από την PI3K καταλήγει στην απελευθέρωση ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$ , το οποίο με τη σειρά του ενεργοποιεί και προάγει τη διέγερση του μεταγραφικού παράγοντα NF-AT ο οποίος έχει άμεση σχέση με την ανοσιακή απόκριση. Η PI3K ρυθμίζει, επίσης, μέσα από πολύπλοκους μηχανισμούς τις GTPάσες Ras, Rac1 και Rap1. Η Ras ελέγχει την κινάση MAPK που κινητοποιεί τη βιοχημική οδό που είναι απαραίτητη για την εξέλιξη και τον πολλαπλασιασμό των ώριμων Β-κυττάρων. Η Rac1 συνδέει τους BCR-υποδοχείς με τις κινάσες JUN και p38MAPK οι οποίες φωσφορυλιώνουν τους μεταγραφικούς παράγοντες Elk-1, c-JUN και ATF-2 MEF2C, οι οποίοι με τη σειρά τους στρατεύουν τα σύμπλοκα της RNA-πολυμεράσης, ώστε να αρχίσει η διαδικασία της μεταγραφής. Η Rap1 προάγει την έκφραση του μορίου προσκόλλησης ιντεγκρίνη (23).



Το ανοσοποιητικό σύστημα συνδέει αντιγόνα με θραύσματα πρωτεϊνών του συμπληρώματος, όπως το C3d, και ελαττώνει την ποσότητα του αντιγόνου που χρειάζεται, ώστε να ενεργοποιηθούν τα Β-κύτταρα, συμπλησιάζοντας τους BCR-υποδοχείς με το σύμπλοκο CD-19 και CD21. Η σύνδεση με το CD-19 προάγει τη μεταφορά των BCR-υποδοχέων στις λιπιδικές νησίδες της κυτταρικής μεμβράνης και την πυροδότηση του βιοχημικού σήματος. Αντίθετα, όταν το σύμπλεγμα αντιγόνου-αντισώματος γεφυρώνει τους BCR-υποδοχείς με το CD-32, τους αποδιηγεί διότι στρατεύει την πρωτεΐνη SHP-1. Οι μηχανισμοί αυτοί βοηθούν στο να υπάρχει ισορροπία. Οι ανενεργοί BCR-υποδοχείς δεν είναι σε θέση να πυροδοτήσουν μεταγραφικούς παράγοντες. Με τους μηχανισμούς αυτούς, ανάλογα με τις συνθήκες, είτε ξεκινά η διέγερση του ανοσοποιητικού συστήματος όταν πρέπει, είτε αναστέλλεται, όταν χρειάζεται.

Όπως ήδη αναφέρθηκε, οι BCR-υποδοχείς των Β- λεμφοκυττάρων καθιστούν το κύτταρο αυτό ικανό να συνδέεται με ένα επιτόπιο που ευρίσκεται επί διαλυτών αντιγονικών μορίων και, εφόσον υπάρχουν επιπρόσθετα σήματα, να ενεργοποιείται και να απαντά μέσω των απογόνων κυττάρων τα οποία εκκρίνουν μεγάλους αριθμούς διαλυτών υποδοχέων που ονομάζονται αντισώματα (12,20-22).

## **ΣΥΝΔΕΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΦΥΣΙΚΩΝ ΚΑΙ ΠΡΟΣΑΡΜΟΖΟΜΕΝΩΝ ΑΝΟΣΙΑΚΩΝ ΑΠΟΚΡΙΣΕΩΝ**

Η πρωτεΐνη πλάσματος που συνδέεται με τους LPS και ονομάζεται LBP (LPS Binding Protein) ενώνεται με αυτούς και τους μεταφέρει στους αντίστοιχους υποδοχείς CD14 των LPS των μακροφάγων. Οι υποδοχείς αυτοί δεν μπορούν να μεταδώσουν ενδοκυττάριο σήμα. Το κάνουν όμως έμμεσα, καθώς συνδέονται με ένα είδος πρωτεϊνών-υποδοχέων που ονομάζονται Toll και ευρίσκονται στην επιφάνεια των μακροφάγων. Η διέγερση των διαμεμβρανικών αυτών πρωτεϊνών οδηγεί στη δημιουργία ενδοκυτταρίου σήματος. Το σύμπλοκο αυτό παριστά τους υποδοχείς TLR4 (Toll like Receptors). Η βιοχημική οδός που ενεργοποιείται περιλαμβάνει τη στράτευση μεταγραφικών παραγόντων και την ενεργοποίηση κινασών μέσα από μηχανισμούς που ήδη περιγράφηκαν, με αποτέλεσμα να προάγεται η μεταγραφική ικανότητα πολλών γονιδίων τα οποία σχετίζονται με τη ρύθμιση του ανοσοποιητικού μηχανισμού. Τα προϊόντα των γονιδίων αυτών, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται κυταροκίνες και συν-διεγερτικά μόρια, δρουν στα Τ και στα Β-λεμφοκύτταρα και διεγείρουν την προσαρμοζόμενη ανοσιακή απόκριση (4).

Σήμερα είναι γνωστό ότι οι λιποπρωτεΐνες LDL οι οποίες έχουν οξειδωμένα φωσφολιπίδια, είναι σε θέση να ενεργοποιούν τους υποδοχείς TLR στα

μακροφάγα κινητοποιώντας μηχανισμούς που οδηγούν στην αθηρωμάτωση. Δεν πρέπει να λησμονείται ότι η εγκατεστημένη αθηρωμάτωση έχει όλα τα στοιχεία της χρόνιας φλεγμονής (24).

### **ΑΝΟΣΟΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ή ΑΝΟΣΙΑΚΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ ΤΥΠΟΥ Th1 ΚΑΙ Th2 ΤΩΝ Τ-ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ**

Στις απαντήσεις ή αποκρίσεις τύπου Th1, τα μακροφάγα και τα άλλα φαγοκύτταρα που περιέχουν βακτηριακές και ιικές πρωτεΐνες ενεργοποιούν τα Τ-λεμφοκύτταρα τύπου Th1 CD4 με τους μηχανισμούς που ήδη αναπτύχθηκαν. Τα τελευταία συνθέτουν και απελευθερώνουν τις IL-2, IL-3, IL-12, INF- $\gamma$ , τους TNF- $\alpha$  και TNF- $\beta$  και τον GM-CSF. Μέσω των παραγόντων αυτών διεγείρονται τα κυτταροτοξικά Τ-λεμφοκύτταρα CD8 τα οποία φονεύουν τα μικρόβια και τα προσβεβλημένα κύτταρα. Επίσης, διεγείρονται τα Β-λεμφοκύτταρα και συνθέτουν IgG αντισώματα που προκαλούν οψωνοποίηση των μικροβίων για τη φαγοκυττάρωσή τους. Ακόμη διεγείρονται και τα μακροφάγα. Παράλληλα αναστέλλονται οι απαντήσεις τύπου Th2. Οι μηχανισμοί της Th1 ανοσιακής απόκρισης βοηθούν σημαντικά στην κατανόηση της παθοφυσιολογίας της αυτοανοσίας και των αντιδράσεων προς τα ξένα μοσχεύματα (4,5).

Στις απαντήσεις ή αποκρίσεις τύπου Th2, τα μακροφάγα, τα δενδριτικά κύτταρα και τα άλλα φαγοκύτταρα ενεργοποιούν τα Τ-λεμφοκύτταρα τύπου Th2 CD4 με τους μηχανισμούς που ήδη αναπτύχθηκαν. Τα τελευταία συνθέτουν και απελευθερώνουν τις IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 και IL-13. Μέσω των παραγόντων αυτών διεγείρονται τα ηωσινόφιλα τα οποία φονεύουν παράσιτα, τα σιτευτικά κύτταρα που ρυθμίζουν τη διαβατότητα των αγγείων στις αλλεργικές εκδηλώσεις, καθώς και τα Β-λεμφοκύτταρα που συνθέτουν IgM, IgG, IgA και IgE αντισώματα, τα οποία με τη σειρά τους φονεύουν απευθείας τα μικρόβια ή προκαλούν την οψωνοποίησή τους για φαγοκυττάρωση. Παράλληλα αναστέλλονται οι απαντήσεις τύπου Th1 (4).

### **ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥΝ ΤΗΝ ΑΠΟΚΡΙΣΗ ΤΩΝ ΦΑΓΟΚΥΤΤΑΡΩΝ**

Μεταξύ των κυριότερων παραγόντων οι οποίοι ελέγχουν την απόκριση των φαγοκυττάρων στη φλεγμονή είναι οι παρακάτω: (3,4,25)

Ο νεκρωτικός των όγκων παράγοντας- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ : Tumor necrosis factor- $\alpha$ ) ο οποίος, μεταξύ άλλων, διεγείρει τη δραστηριότητα των Τ-κυττάρων, των μακροφάγων και των NK-κυττάρων και αναβαθμίζει την έκφραση του MHC κατηγορίας I για την παρουσίαση των οικείων αντιγόνων.

Η ιντερλευκίνη-1 (IL-1: Interleukin-1) η οποία αναβαθμίζει την έκφραση των προσκολλητικών μορίων, τη μετανάστευση των ουδετεροφίλων και μακροφάγων, επάγει την ηπατική σύνθεση των πρωτεϊνών οξείας φάσης και διευκολύνει την αιμοποίηση.

Η IL-2 συντίθεται από τα Τ-λεμφοκύτταρα, τα σιτευτικά κύτταρα και τα βασεόφιλα. Στόχοι της είναι τα Τ-κύτταρα, τα Β-κύτταρα, τα ΝΚ-κύτταρα, τα μονοκύτταρα-μακροφάγα, τα ουδετερόφιλα, τα ηωσινόφιλα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και οι ινοβλάστες. Διεγείρει τη διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό των  $T_H2$  βοηθητικών Τ-κυττάρων, Διεγείρει την εξειδίκευση των Β-κυττάρων Ig τάξης στις τάξεις των IgG1 και IgE και ασκεί αντιφλεγμονώδη δράση στα Τ-κύτταρα και τα μονοκύτταρα.

Ο παράγοντας που διεγείρει τις αποικίες των κοκκιοκυττάρων/μακροφάγων (GM-CSF: Granulocyte/Macrophage Colony Stimulating Factor) ο οποίος ρυθμίζει τη μυελοποίηση, επιτείνει τη βακτηριοκτόνο δράση των μακροφάγων, μεσολαβεί στην ωρίμαση των δενδριτών και αναβαθμίζει τη δράση των ΝΚ-κυττάρων.

Ο παράγοντας που διεγείρει τις αποικίες των κοκκιοκυττάρων (G-CSF: Granulocyte Colony Stimulating Factor) ο οποίος ρυθμίζει τη μυελοποίηση και επιτείνει την επιβίωση των ουδετεροφίλων.

Ο παράγοντας που διεγείρει τις αποικίες των μονοκυττάρων (M-CSF: Monocyte Colony Stimulating Factor) και ρυθμίζει τη σύνθεση και τη δράση τους.

## ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ

Δεν πρέπει να λησμονείται ότι η φλεγμονή αποτελεί μία φυσιολογική αμυντική αντίδραση του οργανισμού. Ασφαλώς θα πρέπει να τελεί υπό έλεγχο και όπου χρειάζεται να ενισχύεται η ανοσιακή απόκριση. Το πρόβλημα εντοπίζεται κυρίως στις χρόνιες φλεγμονές όπου όλοι οι μηχανισμοί ανακυκλώνονται και δημιουργείται ένας φαύλος κύκλος ο οποίος διαιωνίζεται. Στις καταστάσεις αυτές οπωσδήποτε χρειάζεται η φαρμακολογική παρέμβαση.

Οι φαρμακολογικές παρεμβάσεις που αναπτύσσονται στο κείμενο αυτό αφορούν εκείνες που στοχεύουν στα σημεία διέγερσης των κυττάρων της φλεγμονής τα οποία ευρίσκονται στις κυτταρικές μεμβράνες. Η ανάπτυξη των πολλαπλών φαρμακολογικών παρεμβάσεων σε επίπεδα διαδρομής του σήματος στο κυτταρόπλασμα αποτελεί αντικείμενο που υπερβαίνει τα όρια του παρόντος κεφαλαίου.

### **1. Στο επίπεδο των υποδοχών της κυτταρικής μεμβράνης**

Οι παρεμβάσεις στα σημεία αυτά μπορεί να είναι ανασταλτικές ή διεγερτικές, ανάλογα με τις κλινικές ενδείξεις.

**A. Ανασταλτικές φαρμακολογικές παρεμβάσεις στο επίπεδο των υποδοχών που διεγείρονται για να συντεθούν οι φλεγμονογόνες κυτταροκίνες καθώς και των υποδοχών που διεγείρονται από τις φλεγμονογόνες κυτταροκίνες και τους μεσολαβητές της φλεγμονής, για να διεγερθούν κύτταρα στόχοι**

Σε έρευνα ή κλινικές δοκιμασίες ευρίσκονται ουσίες οι οποίες δρουν ένα βήμα προτού ο παράγοντας TNF-α συνδεθεί με τον υποδοχέα του και τον διεγείρει. Πρόκειται για χιμαιρικά μονοκλωνικά αντισώματα όπως η ινφλιξικάβη ή για υβριδικές πρωτεΐνες όπως η ετανερσέπτη και η αλεφασέπτη. Η ινφλιξικάβη περιέχει ένα σταθερό ανθρώπινο τμήμα και ένα μεταβλητό που προέρχεται από ποντίκι. Οι υβριδικές πρωτεΐνες περιέχουν την περιοχή σύνδεσης του υποδοχέα του TNF-α στον άνθρωπο συνδεδεμένη με το τμήμα Fc της ανθρώπινης IgG<sub>1</sub> σφαιρίνης. Όλα αυτά τα προϊόντα συνδέονται με μεγάλη συγγένεια με τον TNF-α και τον εμποδίζουν να συνδεθεί με τον υποδοχέα του· χρησιμοποιούνται υπό προϋποθέσεις σε αυτοάνοσες παθήσεις όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα και η νόσος του Crohn (26).

Η μοριακή κλωνοποίηση των υποδοχών των κυτταροκινών θα δώσει θεραπευτικούς συνθετικούς αποκλειστές των υποδοχών με βάση τη δομή. Η νατριούχος τενιτάπη που ευρίσκεται σε φάση κλινικών δοκιμασιών έχει διαπιστωθεί ότι δρα ως αναστολέας της σύνθεσης ή αποκλειστής των υποδοχών της IL-1 (27).

Διαταραχές στους μοριακούς μηχανισμούς δράσης των χημειοκινών οδηγούν, μεταξύ άλλων, και σε χρόνιες φλεγμονές. Οι υποδοχείς των χημειοκινών αποτελούν σήμερα στόχους για την ανάπτυξη φαρμάκων αποκλειστών με εκλεκτική παρέμβαση. Ειδικότερα, η ανακάλυψη ότι ο ιός του AIDS χρησιμοποιεί ως πύλη εισόδου υποδοχέα των χημειοκινών έδωσε νέα ώθηση στην έρευνα στο πεδίο αυτό (28).

Σε φάση έρευνας από τη φαρμακευτική βιομηχανία είναι η αναζήτηση και η σύνθεση μικρών μορίων τα οποία θα μπορέσουν να δράσουν ως αποκλειστές των υποδοχών των χημειοκινών. Τροποποιήσεις στο N-πέρας των χημειοκινών οδήγησαν μέχρι σήμερα στη σύνθεση αποκλειστών ή ασθενών αγωνιστών των υποδοχών τους, οι οποίοι χρησιμοποιήθηκαν με επιτυχία σε διάφορα πειραματικά μοντέλα φλεγμονής (2).

**B. Ανασταλτικές φαρμακολογικές παρεμβάσεις στο επίπεδο των υποδοχών που διεγείρονται για να ενεργοποιηθούν τα λεμφοκύτταρα**

Οι ανασταλτικές παρεμβάσεις στο επίπεδο των υποδοχών γίνονται με τη χρήση αντισωμάτων των υποδοχών αυτών. Χρησιμοποιούνται κυρίως

μονοκλωνικά αντισώματα που αποκλείουν διάφορους υποδοχείς-στόχους στην επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης των Τ-λεμφοκυττάρων.

Τα μονοκλωνικά αντισώματα τα οποία στρέφονται εναντίων των επιφανειακών αντιγόνων των λεμφοκυττάρων πλεονεκτούν από τα πολυκλωνικά λόγω της εξειδίκευσής τους, η οποία δημιουργεί λιγότερα προβλήματα αποτελεσματικότητας και τοξικότητας. Ιδιαίτερη σημασία έχουν τα μονοκλωνικά αντισώματα τα οποία έχουν ανθρώπινη προέλευση γιατί αφενός αυξάνουν την εκλεκτικότητα, αφετέρου περιορίζουν με την ιδιότητα αυτή τις ανεπιθύμητες ενέργειες. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται τα αντισώματα αντι-CD3 της νέας γενιάς. Επίσης στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα αντισώματα που δρουν ενάντια στον υποδοχέα IL-2 ή αντι-CD25 αντισώματα, όπως η δακλιζουμάβη (daclizumab) και η βασιλιξικάβη (basilixicab). Τα αντισώματα αυτά έχουν μεγάλη συγγένεια προς την α-υπομονάδα του υποδοχέα της IL-2 (CD25) ο οποίος υπάρχει στην επιφάνεια μόνο των διεγερμένων και όχι των ηρεμούντων Τ-λεμφοκυττάρων. Αποκλείουν τον υποδοχέα αυτό και αναστέλλουν τις αντιδράσεις που εκλύονται από τα κύτταρα αυτά (26).

Επίσης, η κατανόηση των σημάτων που εκπορεύονται από τους BCR-υποδοχείς των Β-κυττάρων και τα οποία οδηγούν τα κύτταρα αυτά άλλοτε στο θάνατο και άλλοτε στην ενεργοποίηση, θα βοηθήσει πολύ στην παρασκευή εμβολίων για την αντιμετώπιση τόσο της ανοσιακής ανεπάρκειας όσο και των αυτοάνοσων νοσημάτων (29).

### Γ. Φάρμακα και αντιδράσεις υπερευαισθησίας

Πιστεύεται ότι το 15% των ανεπιθύμητων ενεργειών από φάρμακα οφείλεται σε αντιδράσεις υπερευαισθησίας. Η παρούσα γνώση η οποία αφορά την αναγνώριση των φαρμάκων από το ανοσιακό σύστημα βασίζεται στο γνωστό μοντέλο της απτίνης. Σήμερα υπάρχουν δεδομένα που συνηγορούν στο ότι τα Τ-κύτταρα μπορούν και αντιδρούν και απευθείας με φάρμακα. Επίσης πιστεύεται ότι και άλλα, εκτός των φαρμάκων, μη πεπτιδικά προϊόντα όπως λιπίδια, σάκχαρα και μέταλλα, μπορούν να παρουσιασθούν προς τα Τ-κύτταρα μέσα από το σύστημα του MHC ή από μόρια που ομοιάζουν με το σύστημα αυτό. Πιστεύεται ότι τα φάρμακα ενώνονται με το σύμπλεγμα MHC-TCR-APC (APC: Antigen Presenting Cells), για το οποίο έχει ήδη γίνει περιγραφή, με τον ίδιο τρόπο που ενώνονται και με τους υποδοχείς τους. Δεν είναι γνωστό πώς ακριβώς γίνεται η σύνδεση αυτή. Είναι όμως γνωστό ότι ορισμένες αντιδράσεις υπερευαισθησίας σε φάρμακα εμφανίζονται αυξημένες όταν συνυπάρχουν φλεγμονώδεις καταστάσεις που συνοδεύονται από την ενεργοποίηση των Τ-κυττάρων. Τα ευρήματα αυτά θα βοηθήσουν στην καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών υπερευαισθησίας σε πολλά φάρμακα, θα βοηθήσουν επίσης στην εντόπιση στόχων για φαρμακολογι-

κές παρεμβάσεις στο επίπεδο των υποδοχέων αυτών και γενικά στην καλύτερη αντιμετώπιση των καταστάσεων αυτών (30).

#### Δ. Ο ρόλος του ψευδαργύρου

Ο ψευδάργυρος επηρεάζει την ενεργοποίηση των T-κυττάρων μέσω της εξαρτώμενης από αυτόν τυροσινικής κινάσης, με αποτέλεσμα να ελαττώνεται η ικανότητα των υποδοχέων των χημειοκινινών στα κύτταρα αυτά να ενώνονται με τις αντίστοιχες χημειοκινίνες. Ο ψευδάργυρος επηρεάζει, επίσης, τα ανοσιακά κύτταρα αυξάνοντας την ενεργότητα πολλών ενζύμων, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται η DNA πολυμεράση και η RNA πολυμεράση που είναι απαραίτητες για την αντιγραφή και τη μεταγραφή του DNA. Ο ψευδάργυρος, ο οποίος είναι καταλυτικό στοιχείο περισσότερων από 300 ενζύμων και δομικό στοιχείο πολλών πρωτεϊνών, έχει σπουδαίο ρόλο στη διατήρηση της ανοσιακής απόκρισης, ιδιαίτερα στις μεγάλες ηλικίες (31).

Ο ψευδάργυρος διατηρεί την ισορροπία μεταξύ των Th1 και Th2 κυττάρων, τα οποία στη συνέχεια ελέγχονται από την IL-12 και από τον παράγοντα TGF- $\beta$  που συντίθεται από τα κύτταρα-Th3. Επίσης ο ψευδάργυρος είναι απαραίτητος για την ενεργοποίηση της θυμικής ορμόνης θυμουλίνης που είναι απαραίτητη για την ωρίμανση και διαφοροποίηση των T-κυττάρων και εμποδίζει την κυτταρική απόπτωση. Πιστεύεται ότι η χορήγηση ψευδαργύρου στις μεγάλες ηλικίες θα μπορούσε να αποκαταστήσει την επιδιόρθωση του DNA από την PARP (poly ADP-ribose polymerase) (31).

#### Ε. Ενίσχυση της δραστηριότητας των ανοσιακών κυττάρων

Υπάρχουν όμως και καταστάσεις όπου η λειτουργική δραστηριότητα των ανοσιακών κυττάρων πρέπει να ενισχυθεί. Σε πειραματικό πεδίο αλλά και στην κλινική πράξη δοκιμάζονται διάφοροι αυξητικοί παράγοντες, οι κυριότεροι από τους οποίους είναι οι εξής: (22)

Ο παράγοντας G-CSF διεγείρει τον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και τη λειτουργία των κυττάρων της κοκκιώδους σειράς. Δρα κυρίως στις μονάδες σχηματισμού των αποικιών, ενώ σε συνέργεια με την IL-3 και τον παράγοντα GM-CSF διεγείρει και άλλες σειρές κυττάρων. Έχει ελάχιστη δράση στα μακροφάγα, στα μονοκύτταρα και στα ηωσινόφιλα. Παράλληλα ελαττώνει τη φλεγμονή αναστέλλοντας τη δράση του TNF- $\alpha$ , της IL-1 και της INF $\gamma$ . Η σαργκραμοστίνη, η οποία είναι μία γλυκοπρωτεΐνη με 127 αμινοξέα και αποτελεί την ανασυνδυασμένη μορφή του GM-CSF, έχει στην κλινική πράξη διεγερτικό αποτέλεσμα στη μυελοποίηση μειώνοντας κυρίως την ουδετεροπενία και χρησιμοποιείται στις μεταμοσχεύσεις μυελού των οστών και στις χημειοθεραπείες για την ενίσχυση του ανοσοποιητικού συστήματος.

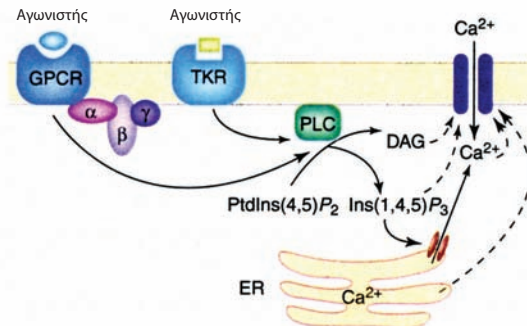
Η φιλγκραστίμη, η οποία είναι μια γλυκοπρωτεΐνη με 175 αμινοξέα και αποτελεί την ανασυνδρασμένη μορφή του G-CSF, διεγείρει τις μονάδες σχηματισμού των αποικιών, ώστε να αυξηθεί η παραγωγή ουδετεροφίλων. Επιτείνει τις φαγοκυτταρικές και κυτταροτοξικές δράσεις των κυττάρων αυτών. Στην κλινική πράξη έχει αποδειχθεί αποτελεσματική στις σοβαρές ουδετεροπενίες ύστερα από μεταμοσχεύσεις μυελού των οστών και χημειοθεραπείες.

Η ακριβής θεραπευτική αξία ανάλογων αυξητικών παραγόντων χρειάζεταιται διερεύνηση, καθώς και οι διάφοροι συνδυασμοί οι οποίοι προτείνονται ή δοκιμάζονται.

Οι ιντερφερόνες διεγείροντας τους υποδοχείς τους στην κυτταρική μεμβράνη προάγουν, μεταξύ άλλων, τη φαγοκυτταρική ικανότητα των μακροφάγων και την ειδική κυτταροτοξική ικανότητα των Τ-λεμφοκυττάρων. Η ανασυνδρασμένη μορφή της ιντερφερόνης α-2b χρησιμοποιείται, μεταξύ άλλων, σε μολυσματικές ασθένειες όπως η χρόνια ηπατίτιδα τύπου Β και σε συνδυασμό με τη ριβαβιρίνη στη χρόνια ηπατίτιδα τύπου C. Η ανασυνδρασμένη ιντερφερόνη γ-1b ενεργοποιεί τα φαγοκύτταρα και προάγει τη σύνθεση οξειδωτικών ριζών από αυτά. Συνιστάται για την αντιμετώπιση σοβαρών λοιμώξεων οι οποίες σχετίζονται με τη χρόνια κοκκιωματώδη νόσο (32,33).

## **2. Στο επίπεδο των διαύλων του $Ca^{2+}$**

Είναι γνωστό ότι η αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$  σε κάθε κύτταρο αποτελεί το βασικό ερέθισμα για τη διέγερση του τελευταίου. Η διέγερση των λευκοκυττάρων από τα φλεγμονώδη ερεθίσματα προκαλεί την είσοδο  $Ca^{2+}$  μέσα από διαύλους της κυτταρικής μεμβράνης. Είναι γνωστό ότι τόσο τα λευκοκύτταρα όσο και τα ενδοθηλιακά κύτταρα στερούνται δυναμικοευαίσθητων διαύλων (POCs: Potential Operating Channels). Εχουν όμως στην κυτταρική τους μεμβράνη διαύλους που συνδέονται με υποδοχείς που επίσης ευρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη. Οι διάυλοι αυτοί που ανοίγουν ύστερα από τη διέγερση των υποδοχέων ονομάζονται ROCs (Receptor Operating Channels). Ονομάζονται επίσης και χημειοευαίσθητοι διάυλοι. Οι κυριότεροι από τους διαύλους αυτούς είναι αυτοί που συνδέονται με τους υποδοχείς μέσω της G-πρωτεΐνης. Υπάρχουν και διάυλοι που ανοίγουν ύστερα από τη διέγερση των υποδοχέων της τυροσινικής κινάσης που απαντούν επίσης στην κυτταρική μεμβράνη. Και τα δύο είδη υποδοχέων διεγείρουν επίσης τη φωσφολιπάση C (PLC: Phospholipase C). Το ένζυμο αυτό υδρολύει τη διφωσφορική φωσφατιδυλινοσιτόλη ( $PIP_2$ : Phosphatidylinositol Biphosphate) στην κυτταρική μεμβράνη. Το προϊόν της αντίδρασης αυτής, η τριφωσφορική ινοσιτόλη ( $IP_3$ : Inositol Triphosphate) περνά στο κυτταρόπλασμα και προάγει την απελευθέρωση του  $Ca^{2+}$  από τις ενδοκυτ-



**Εικόνα 2.14: Μηχανισμοί εισόδου του  $\text{Ca}^{2+}$  μετά τη διέγερση υποδοχέα.** Αναπαρίστανται οι κύριες βιοχημικές οδοί εισόδου του  $\text{Ca}^{2+}$  μετά τη διέγερση υποδοχέων που συνδέονται με την G-πρωτεΐνη (GPCR: G-Protein Coupled Receptors) και υποδοχέων που συνδέονται με την τυροσινική κινάση (TKR: Tyrosine Kinase Receptors). Η διέγερση και των δύο υποδοχέων ενεργοποιεί την φωσφολιπάση C (PLC: Phospholipase C) με αποτέλεσμα αφενός το σχηματισμό της τριφωσφορικής 1,4,5 ινοσιτόλης (Ins 1,4,5  $\text{P}_3$ : Inositol 1,4,5 triphosphate) η οποία απελευθερώνει  $\text{Ca}^{2+}$  από το ενδοπλασματικό δίκτυο (ER: Endoplasmic Reticulum), αφετέρου της διφωσφορικής 4,5 φωσφατιδυλινοσιτόλης (PtdIns 4,5  $\text{P}_2$ : Phosphatidylinositol 4,5 bisphosphate) η οποία δίνει τη διακυλογλυκερόλη (DAG: Diacylglycerol). Η διάνοιξη των μη δυναμικοευαίσθητων διαπερατών διαύλων του  $\text{Ca}^{2+}$  της κυτταρικής μεμβράνης μετά τη διέγερση των υποδοχέων της ίδιας μεμβράνης γίνεται με μηχανισμό που δεν είναι γνωστός. Πιστεύεται ότι η κένωση του ER από το  $\text{Ca}^{2+}$ , η DAG, η Ins 1,4,5  $\text{P}_3$  ή η αύξηση του ενδοκυττάριου  $\text{Ca}^{2+}$  έχουν κάποια σχέση με τους μηχανισμούς που προάγουν το άνοιγμα των διαύλων αυτών.

*Trends Pharmacol. Sci. 23:63-70 (2002)*

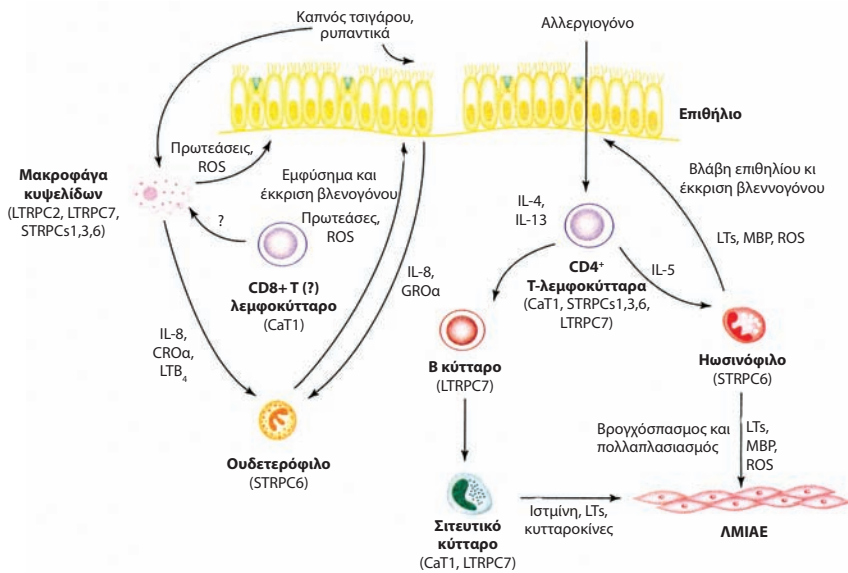
τάριες αποθήκες. Επίσης, τα εισερχόμενα κύματα του  $\text{Ca}^{2+}$  προάγουν την απελευθέρωση του ίδιου ιόντος από τις ενδοκυττάριες αποθήκες μέσω των υποδοχέων της ρυανοδίνης.

Παράλληλα, στην ίδια κατηγορία διαύλων ROC ανήκουν η ομάδα των διαύλων που συνδέονται με τους υποδοχείς TRP (Transient Receptor Potential) και η ομάδα των διαύλων του  $\text{Ca}^{2+}$  που λειτουργούν με σήματα που έρχονται από την ελάττωση των αποθεμάτων του ιόντος αυτού στις ενδοκυττάριες αποθήκες (SOCCs: Store Operated  $\text{Ca}^{2+}$  Channels). Οι ακριβείς όμως μηχανισμοί ενεργοποίησης αυτών των δύο διαύλων δεν είναι γνωστοί. (34,35)

Στα λευκοκύτταρα της φλεγμονής, όπως είναι τα Τ-κύτταρα, τα ουδετερόφιλα και τα σιτευτικά κύτταρα, η αύξηση αυτή των  $\text{Ca}^{2+}$  στο κυτταρόπλασμα τα διεγείρει και προάγει πολλές λειτουργίες αυτών, όπως ο πολλαπλασιασμός και η παραγωγή οξειδωτικών ουσιών. Ειδικά στα σιτευτικά κύτταρα προάγει και την αποσάθρωσή τους. Εντούτοις, οι δρόμοι εισόδου των  $\text{Ca}^{2+}$  διαφέρουν στα διάφορα είδη λευκοκυττάρων (35).

Το γεγονός αυτό αποτελεί τόσο πλεονέκτημα όσο και μειονέκτημα. Το μειονέκτημα αφορά τις πολύπλευρες μελέτες οι οποίες πρέπει να γίνουν για την ταυτοποίηση του είδους κάθε διαύλου στις διάφορες μορφές των κυττάρων που συμμετέχουν στη φλεγμονή. Το πλεονέκτημα είναι ότι κάθε δίαυλος μπορεί να αποτελέσει στόχο για εκλεκτική φαρμακολογική παρέμ-





**Εικόνα 2.15: Οι διάλυτοι παροδικού δυναμικού (TRP: Transient Receptor Potential) των λευκοκυττάρων που εμπλέκονται στη φλεγμονή των αεροφόρων οδών.** Αναπαρίστανται οι μηχανισμοί ανάπτυξης φλεγμονής των αεροφόρων οδών στους οποίους εμπλέκονται οι διάφοροι υποτύποι (LTRPC2, LTRPC7, STRPCs1,3,6) των διαλύτων TRP στα διάφορα κύτταρα της φλεγμονής. ROS (Reactive oxygen species: ενεργείς ρίζες οξυγόνου), LTs (Leucotrienes: Λευκοτριένες), MBP (Major basic protein: Μέγιστη βασική πρωτεΐνη), ΛΜΙΑΕ (Λείες μυϊκές ίνες αεροφόρων οδών), GROα (Growth-regulated oncogene α: Ρυθμιστικό αυξητικό ογκονίδιο α). *Trends Pharmacol. Sci. 23:63-70 (2002)*

βαση που θα τροποποιεί τη δράση του συγκεκριμένου είδους λευκοκυττάρου, χωρίς όμως να προκαλεί εξασθένηση της άμυνας του οργανισμού. Η σύνθεση παρόμοιων ουσιών αποτελεί αντικείμενο της έρευνας σήμερα.

Φάρμακα με τις ιδιότητες αυτές θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως αντιφλεγμονώδεις ή ανοσοτροποποιητικοί παράγοντες. Η κατάλληλη καταστολή της δράσης των μακροφάγων που είναι από τους ενορχηστρωτές της φλεγμονώδους αντίδρασης θα μπορούσε να αποβεί ωφέλιμη σε χρόνιες φλεγμονώδεις παθήσεις όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η χρόνια αποφρακτική νόσος, η αθηρωμάτωση και η πολλαπλή σκλήρυνση, όπου αυτά συμμετέχουν. Η προσεκτική καταστολή της δράσης των ουδετεροφίλων θα ασκούσε ισχυρή αντιφλεγμονώδη δράση στη θεραπεία των οξέων και χρόνιων φλεγμονών του αναπνευστικού συστήματος του εντέρου, της ρευματοειδούς αρθρίτιδας και της ψωρίασης, όπου έχουν σημαντική παρουσία. Τέλος, η καταστολή της δράσης των ηωσινοφίλων θα ήταν ωφέλιμη στο βρογχικό άσθμα, όπου παρατηρείται συσσώρευση και ενεργοποίησή τους (35).

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ**

1. Guyton A., Hall J.: Textbook of medical physiology. Saunders W. Company. Philadelphia USA, (1996)
2. Wells T., Power Ch., Proudfoot A.: Definition, function and pathophysiological significance of chemokine receptors. *Trends Pharmacol.Sci.* 22:146-152 (2001)
3. Haynes B., Fauci A.: Introduction to the immune system. In Braunwald E. et al (eds) " Harrison's. Principles of internal medicine". McGraw-Hill Med. Publ. Div., N.York, p1805 (2001)
4. Henderson B., Blake S.: Therapeutic potential of cytokine manipulation. *Trends Pharmacol. Sci.* 13: 145-152, (1992)
5. Μπούρα Π.: Ανοσιακή απόκριση και θεραπείες που στοχεύουν το Τ-λεμφοκύτταρο. Πρακτικά Επιστ. Ημερίδας " Θεραπευτικές στρατηγικές που στοχεύουν στο Τ-λεμφοκύτταρο. Θεσσαλονίκη 1-11-03, σελ 5-8
6. Aird W.; The role of the endothelium in severe sepsis and multiple organ dysfunction syndrome. *Blood* 101: 3765-3777 (2003)
7. Barreiro O., Yanez-Mo M., Serrador J.: Dynamic interaction of VCAM-1 and ICAM-1 with moesin and ezrin in a novel endothelial docking structure for adherent leukocytes. *J. Cell Biol.* 157:1233-1245 (2002)
8. Cocks T., Moffatt J.: Protease-activated receptors. Sentries for inflammation?. leukocytes. *Trends Pharmacol.Sci.* 21:103-108 (2000)
9. Vergnolle N., Wallace J., Bunnett N., Hollenberg M.: Protease-activated receptors in inflammation, neuronal signaling and pain. *Trends Pharmacol.Sci.* 22:146-152 (2001)
10. Cirino G., Napoli C., Bucci M., Cicale C.: Inflammation-coagulation network. Are serine protease receptors the knot?. *Trends Pharmacol. Sci.* 21: 170-173 (2000)
11. Gaetano G., Benedetta Donati M., Cerletti C.: Prevention of thrombosis and vascular inflammation. Benefits and limitations of selective or combined COX-1, COX-2 and 5-LOX inhibitors. *Trends Pharmacol. Sci.* 24: 245-251 (2003)
12. Levings M., Sangregorio R., Roncarolo M.G.: Human CD25+ CD4+ T regulatory cells suppress naïve and memory T cell proliferation and can be expanded without loss of function. *J. Exp. Medicine* 193:1295-1302 (2001)
13. Van Amersfoort E., Van Berkel T., Kuiper J.: Receptors, mediators and mechanisms involved in bacterial sepsis and septic shock. *Clin. Microbiol. Rev.* 16:379-414 (2003)
14. Murphy P.: Chemokine receptors. glucocorticoids and pathological

- significance. National Institutes of Health, Bethesda. MD USA, *Trends Pharmacol. Sci.* 17: attached paper, (1996)
15. Mann D.: Cytokines as mediators of disease progression in the failing heart. In: Hosenpud J. and Greenberg B.(eds) " Congestive heart failure. Lippicott Williams and Wilkins, Philadelphia 2000
  16. Miller Y., Chang M., Binder C.: Oxidized low density lipoprotein and innate immune receptor. *Cur. Opin. Lipidol.* 14: 437-443 (2003)
  17. Parente L., Perretti M.: Lipocortin 1. More than an anti-phospholipase protein. *Inflam. Res.* 53:125-132 (2004)
  18. Rescher U., Danielczyk A., Markoff A.: Functional activation of the formyl Peptide Receptor by a new endogenous ligand in human lung A549 cells. *J. Immunology* 169:1500-1504 (2002)
  19. Κόκκας Β.: Θέματα Μοριακής Φαρμακολογίας. University Studio Press, Θεσσαλονίκη 1999
  20. Metzhitov R., Janeway C.: Innate immunity. Impact on the adaptive immune response. *Curr. Opin. Immunol.* 9:4-21 (1997)
  21. Yasutomo K., Doyle C., Miele L.: The duration of antigen receptor signaling determines CD4+ versus CD8+ T-cell lineage fate. *Nature* 404:506-510 (2000)
  22. CD4-Positive T cells in bacterial killing. *Medline-Internet-2002*
  23. Gold M.: To make antibodies or not. Signaling by the B-cell antigen receptor. *Trends Pharmacol. Sci.* 23: 316-322, (2002)
  24. Miller Y., Chang M., Binder C, Shaw p.: Oxidized low density lipoprotein and innate immune system. *Current Op. Lipidol.* 14: 437-445, (2003)
  25. Cho M.L., Kim W.U., Min S.Y.: Cyclosporine differentially regulates interleukin-10, interleukin-15 and tumor necrosis factor  $\alpha$  production by rheumatoid synoviocytes. *Arthritis Rheum.* 46:42-51 (2002)
  26. Krensky A., Storm T., Bluestone J.: Immunomodulators. In: Hardman J. et al (eds). "Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics". McGraw-Hill Med. Publ. Div., N.York p. 1463, (1999)
  27. Saba R., Guler M., Inan D.: The effect of granulocyte-stimulating factor in the treatment of Escherichia coli peritonitis with or without ceftriaxone in a nonneutropenic rat model. *Surg. Today* 33: 504-508 (2003)
  28. Devalaraja M., Richmond A.: Multiple chemotactic factors. Fine control or redundancy? *Trends Pharmacol. Sci.* 20: 151-157 (1999)
  29. Gold M.: To make antibodies or not. Signaling by the B-cell antigen receptor. *Trends Pharmacol. Sci.* 23:316-324 (2002)
  30. Zenni M., Schnyder B., von Greyerz S., Pichler W.: Involvement of T cells in drug-induced allergies. *Trends Pharmacol. Sci.* 19: 308-310 (1998)
  31. Mocchegiani E., Muzzioli M., Giacconi R. Zinc and immunoresistance to

- infection in aging. New biological tools. *Trends Pharmacol. Sci.* 21: 205-208 (2000)
32. Hillman R.: Hematopoietic agents. In: Hardman J. and Limbird L (eds) "Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics". McGraw-Hill Med. Publ. Co., New York, pp1487-1517 (2001)
  33. Krensky A., Strom T., Bluestone J.: Immunomodulators. In: Hardman J. and Limbird L (eds) "Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics". McGraw-Hill Med. Publ. Co., New York, pp1463-1487 (2001)
  34. Yao X., Huang Y.: From nitric oxide to endothelial cytosolic  $Ca^{2+}$ : a negative feedback control. *Trends Pharmacol.Sci.* 24:263-266 (2003)
  35. Li S., Westwick J., Poll C.: Receptor-operated  $Ca^{2+}$  influx channels in leukocytes. A therapeutic target?. *Trends Pharmacol.Sci.* 23:63-70 (2002)

## Κυτταροκίνες και μεταγραφικοί παράγοντες της φλεγμονής Μοριακοί φαρμακολογικοί στόχοι

Β. Κόκκας, Α. Γούλας και Α. Κόκκας  
Εργαστήριο Φαρμακολογίας  
Ιατρική Σχολή Α.Π.Θ.

### περίληψη

Οι κυτταροκίνες αποτελούν μία ομάδα πρωτεϊνικών μορίων που συντίθενται και απελευθερώνονται από τα κύτταρα του ανοσιακού συστήματος ως απάντηση σε μία ποικιλία ερεθισμάτων. Κατά μία εμπειρική κατάταξη, οι κυτταροκίνες διακρίνονται σε προφλεγμονώδεις ή φλεγμονογόνες, σε χημειοτακτικές ή χημειοκινίνες και σε ανοσορρυθμιστικές. Οι κυτταροκίνες κινητοποιούν ενδοκυττάρια βιοχημικές οδούς οι οποίες ενεργοποιούν μεταγραφικούς παράγοντες. Αυτοί με τη σειρά τους προάγουν τη μεταγραφή πρωτεϊνών της φλεγμονής. Οι φαρμακολογικές παρεμβάσεις αφορούν μοριακούς στόχους που ευρίσκονται είτε στα κύτταρα που συνθέτουν τις κυτταροκίνες είτε στα κύτταρα που διεγείρονται από αυτές. Οι φαρμακολογικές αυτές παρεμβάσεις μπορεί να έχουν είτε ανασταλτικό ρόλο, όπως συμβαίνει στις χρόνιες φλεγμονές, είτε διεγερτικό ρόλο, όταν η ανοσιακή αντίδραση υπολείπεται.

### εισαγωγή

Τα κύτταρα του ανοσιακού ή ανοσοποιητικού συστήματος επικοινωνούν μεταξύ τους και συντονίζονται ως προς την εκδήλωση της ανοσιακής απόκρισης. Η επικοινωνία αυτή επιτυγχάνεται μέσω μίας ομάδας πρωτεϊνικών ουσιών οι οποίες ονομάζονται κυτταροκίνες. Οι κυτταροκίνες αυτές ρυθμίζουν την ανάπτυξη, την εξέλιξη και την ενεργοποίηση των κυττάρων του ανοσιακού συστήματος που μεθοδεύουν τη φλεγμονώδη αντίδραση. Η προαγωγή της μεταγραφής μίας σειράς γονιδίων που κωδικοποιούν τις κυτταροκίνες αυτές επιτυγχάνεται ύστερα από την ενεργοποίηση ορισμένων ενδοκυττάρια πρωτεϊνών. Οι πρωτεΐνες αυτές αποτελούν τους μεταγραφικούς παράγοντες της φλεγμονής.

Η σύνθεση, απελευθέρωση και δράση των κυτταροκινών επιτυγχάνεται μέσα από πολύπλοκους μηχανισμούς σε μοριακό επίπεδο. Η φαρμακολογική έρευνα αποσκοπεί στην πλήρη μελέτη των μηχανισμών αυτών και στην εντόπιση μοριακών στόχων για εκλεκτικές φαρμακολογικές παρεμβάσεις.

Στις γραμμές που ακολουθούν αναπτύσσεται ό,τι είναι γνωστό μέχρι σήμερα για το θέμα αυτό.

## **ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ**

Οι κυτταροκίνες αποτελούν μία ομάδα πρωτεϊνικών μορίων, σχετικά μικρού Μ.Β. (15-30 kDa), που συντίθενται και απελευθερώνονται από τα κύτταρα του ανοσιακού συστήματος ως απάντηση σε μια ποικιλία ερεθισμάτων. Μεταξύ των ερεθισμάτων αυτών περιλαμβάνονται μικροβιακά προϊόντα, όπως λιποπολυσακχαρίδες, ιοί και διάφοροι άλλοι βλαπτικοί παράγοντες που διεγείρουν ειδικούς υποδοχείς στην κυτταρική μεμβράνη των κυττάρων αυτών (1-4).

Οι κυτταροκίνες ρυθμίζουν την ανάπτυξη, την εξέλιξη και την ενεργοποίηση των κυττάρων του ανοσιακού ή ανοσοποιητικού συστήματος και μεθοδεύουν τη φλεγμονώδη αντίδραση. Οι κυτταροκίνες ασκούν τις ενέργειές τους προάγοντας την έκφραση ορισμένων γονιδίων στα κύτταρα της φλεγμονής. Η διέγερση αυτή των γονιδίων καταλήγει στην κυτταρική ενεργοποίηση, αύξηση και διαφοροποίηση, καθώς επίσης και στη λειτουργική έκφραση των μορίων της κυτταρικής μεμβράνης. Το αποτέλεσμα είναι η κυτταρική δράση. Η βιολογική δραστηριότητα της κάθε κυτταροκίνης εξαρτάται από τη συγκέντρωση της τελευταίας, από την πυκνότητα των υποδοχέων της στα σημεία στα οποία θα δράσει, καθώς και από την παρουσία κυκλοφορούντων αγωνιστών ή ανταγωνιστών για κάθε κυτταροκίνη (1,4,5).

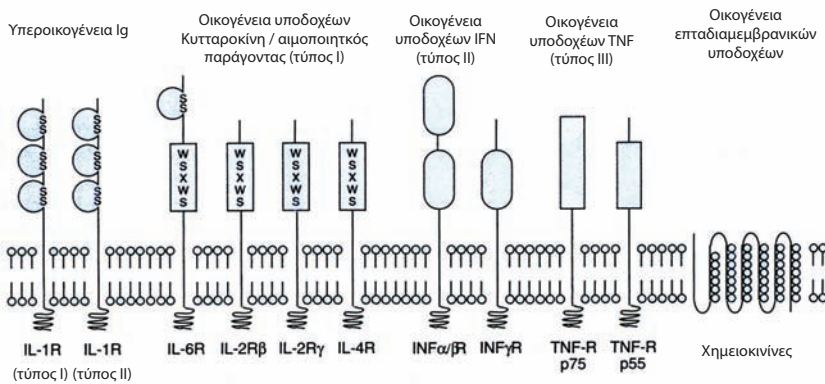
Κατά μία εμπειρική κατάταξη, οι κυτταροκίνες διακρίνονται σε προφλεγμονώδεις ή φλεγμονογόνες, σε χημειοτακτικές ή χημειοκίνες και σε ανοσορρυθμιστικές (4).

Οι φλεγμονογόνες κυτταροκίνες και οι χημειοκίνες παράγονται κυρίως από τα μονοκύτταρα φαγοκύτταρα σε απάντηση βλαπτικών παραγόντων. Στις φλεγμονογόνες κυτταροκίνες περιλαμβάνονται, μεταξύ άλλων, οι ιντερλευκίνες IL-1, IL-6 και ο νεκρωτικός των όγκων παράγοντας-α (TNF-α: Tumor Necrosis Factor-α). Στις χημειοκίνες περιλαμβάνονται η IL-8, η χημειοτακτική πρωτεΐνη των μονοκυττάρων (MCP: Monocyte Chemotactic Protein), η φλεγμονώδης πρωτεΐνη των μακροφάγων (MIP: Macrophage Inflammatory Protein) και η RANTES (Regulation upon Activation of Normal T Expressed and Secreted).

Οι ανοσορρυθμιστικές κυτταροκίνες συντίθενται η καθεμία από διάφορα κύτταρα του ανοσιακού συστήματος και σχετίζονται με την ενεργοποίηση, την αύξηση και τη διαφοροποίηση των λευκοκυττάρων. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται οι ιντερλευκίνες IL-2, IL-4, IL-10, IL-15, η ιντερφερόνη-γ

(INF- $\gamma$ ) και ο τροποποιητικός αυξητικός παράγοντας- $\beta$  (TGF- $\beta$ : Transforming Growth Factor- $\beta$ ).

Υπάρχουν πέντε κατηγορίες υποδοχέων των κυτταροκινών: η υπεροικογένεια των υποδοχέων της Ig σφαιρίνης, η οικογένεια των υποδοχέων τύπου αιμοποιητικών αυξητικών παραγόντων, η οικογένεια των υποδοχέων της INF (Interferon), η οικογένεια των υποδοχέων του TNF και οι υποδοχείς των χημειοκινινών. Οι υποδοχείς των τεσσάρων πρώτων οικογενειών είναι διαμεμβρανικοί, δηλαδή διατιτραίνουν την κυτταρική μεμβράνη και αποτελούνται από ένα εξωκυττάριο τμήμα, το οποίο αναγνωρίζει την κυτταροκίνη, ένα διαμεμβρανικό τμήμα και ένα ενδοκυττάριο τμήμα, το οποίο κινητοποιεί ενζυμικές αντιδράσεις. Ο υποδοχέας των χημειοκινινών ανήκει στους επταδιαμεμβρανικούς που συνδέονται με G-πρωτεΐνη (4).



**Εικόνα 3.1: Σχηματική παράσταση διαφόρων τύπων υποδοχέων των κυτταροκινών της κυτταρικής μεμβράνης.** Πρόκειται για υποδοχείς οι οποίοι διατιτραίνουν την κυτταρική μεμβράνη κατά επιμήκη τρόπο. Στο εξωκυττάριο τμήμα υπάρχει σημείο αναγνώρισης του προσδέτη. Το ενδοκυττάριο τμήμα καταλήγει σε ενζυμικό σύστημα το οποίο καταλύει τις βιοχημικές αντιδράσεις με τις οποίες το σήμα μεταφέρεται στα ενδότερα του κυττάρου. Εξαίρεση αποτελούν οι υποδοχείς των χημειοκινινών οι οποίοι ανήκουν στην κατηγορία των επταδιαμεμβρανικών υποδοχέων που συνδέονται με G-πρωτεΐνη.

*Harrison's Principles of Internal Medicine (2001)*

### Φλεγμονογόνες κυτταροκίνες

Οι προφλεγμονώδεις ή φλεγμονογόνες ή από το στρες ενεργοποιούμενες κυτταροκίνες ενεργούν ως μεσολαβητές που προάγουν την εξέλιξη της οξείας φάσης της φλεγμονής ως απάντηση σε παράγοντες που σχετίζονται με τη μόλυνση και τον τραυματισμό. Οι κυριότερες από αυτές είναι, όπως ήδη αναφέρθηκε, ο TNF- $\alpha$ , η IL-1 και η IL-6 (1).

Ο TNF-α συντίθεται μεταξύ άλλων από τα μονοκύτταρα/μακροφάγα, τα κύτταρα φυσικούς φονείς (NK:Natural Killer), τα σιτευτικά κύτταρα, τα βασεόφιλα και τα ηωσινόφιλα. Αποτελεί επίσης προϊόν υπερπληρωμένων με λίπος λιποκυττάρων. Επιτείνει την τοξικότητα των λευκοκυττάρων και τη σύνθεση των πρωτεϊνών της οξείας φάσης της φλεγμονής και επάγει άλλες φλεγμονογόνες κυτταροκίνες (4).

Ο TNF-α διεγείρει δύο είδη διαμεμβρανικών υποδοχέων, τον TNFR1 (55 kDa) και τον TNFR2 (75kDa). Και οι δύο υποτύποι υποδοχέων παρουσιάζουν στο εξωκυττάριο τμήμα τους ένα κοινό κομμάτι που συνίσταται από επαναλαμβανόμενα υπολείμματα κυστεΐνης, ενώ το ενδοκυττάριο τμήμα τους διαφέρει, γεγονός που σημαίνει ότι κινητοποιούν διαφορετικές ενδοκυτταρικές βιοχημικές οδούς. Οι οδοί όμως αυτές που διαπλέκονται μεταξύ τους καταλήγουν στην ενεργοποίηση των μεταγραφικών παραγόντων NF-κB και AP-1. Οι παράγοντες αυτοί επάγουν τη γονιδιακή έκφραση διαφόρων κυτταροκινών, της κυκλοοξυγενάσης-2 (COX-2: Cyclooxygenase-2) και της επαγόμενης συνθετάσης (iNOS: inducible NO Synthetase), ενώ έχει διαπιστωθεί και διασύνδεση με αποπτωτικές οδούς. Οι υποδοχείς αυτοί αποκόπτονται μετά το πέρας της διέγερσής τους και τα εξωκυττάρια τμήματά τους, αφού απορριφθούν, κυκλοφορούν στη συνέχεια ως διαλυτοί υποδοχείς (sTNF-R: soluble TNF-Receptors). Τα τμήματα αυτά στην αρχή λειτουργούν πιθανόν ως ηθμοί στις τοξικές δράσεις του TNF-α, μακροπρόθεσμα όμως φαίνεται ότι επιτείνουν τη δράση του τελευταίου, διότι σταθεροποιούν το τριμερές του το οποίο απελευθερώνουν σταδιακά (1).

Η IL-1 συντίθεται μεταξύ άλλων από τα μονοκύτταρα/μακροφάγα, τους ινοβλάστες, τα Β-κύτταρα, τα περισσότερα επιθηλιακά κύτταρα, συμπεριλαμβανομένων εκείνων του θύμου αδένου, και από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η IL-1 διεγείρει την έκφραση των μορίων προσκόλλησης, τη μετανάστευση των ουδετεροφίλων και των μακροφάγων ενώ παράλληλα διεγείρει και τη σύνθεση των ηπατικών πρωτεϊνών της οξείας φάσης της φλεγμονής (4).

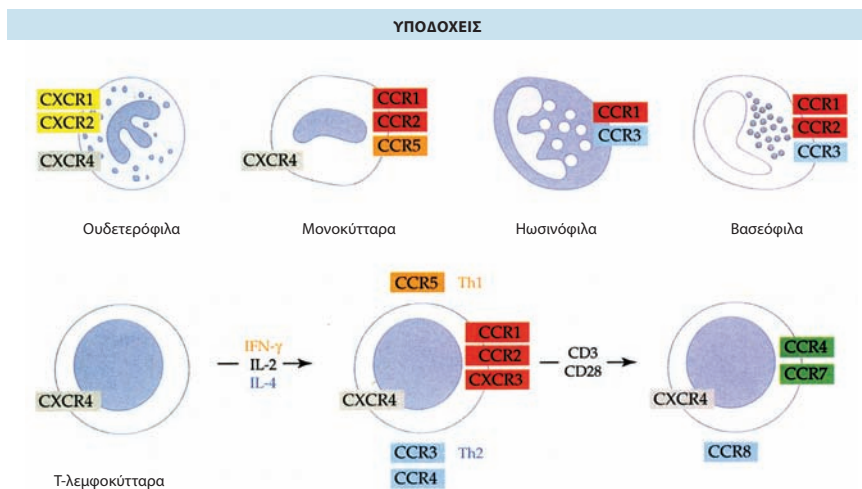
Ο υποδοχέας της IL-1 που χαρακτηρίζεται ως IL-1R είναι διαμεμβρανικός, ανήκει στην υπεροικογένεια της Ig σφαιρίνης και παρουσιάζει δύο υποτύπους. Τον IL-RI που συνδέεται με την IL1α και την IL-1β και παράγει βιοχημικό σήμα και τον IL-RII που συνδέεται πάλι με τις ίδιες ουσίες, αλλά δεν παράγει βιοχημικό σήμα. Χρησιμεύει όμως ως ένα είδος συλλέκτη για την IL-1 και ονομάζεται υποδοχέας παγίδευσης (decoy receptor). Όταν η IL-1 συνδέεται με τον υποδοχέα IL-1RI, τότε αυτός με τη σειρά του ενώνεται με μία βοηθητική πρωτεΐνη, την IL-1R-ACp (Interleukin-1 Receptor Accessory Protein). Η παραγωγή του ενδοκυττάρου βιοχημικού σήματος βασίζεται στο σχηματισμό του ετεροτριμερούς αυτού. Σε αντίθεση με αυτά, η IL1R1a (Interleukin-1 Receptor Antagonist) που δρά ως ανταγωνιστής στον υποδοχέα των IL1α



και IL-1 $\beta$ , ενώ ενώνεται με τον υποδοχέα IL-1RI δεν μπορεί να προκαλέσει το σχηματισμό του ετεροδιμερούς και γι' αυτό δεν παράγεται βιοχημικό σήμα. Μετά τη διέγερση, το εξωκυττάριο τμήμα και των δύο υποτύπων του υποδοχέα που είναι διαλυτό αποσπάται και περνά στην κυκλοφορία χρησιμεύοντας ως ηθμός για τις IL1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  και ILR1 $\alpha$  (1,6).

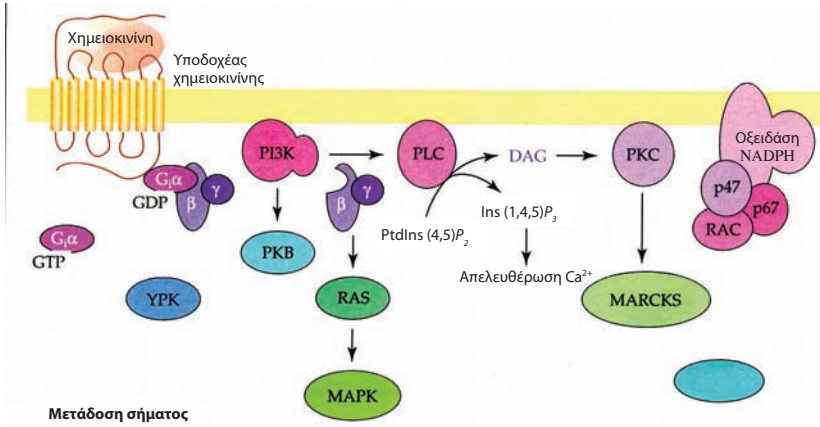
Η IL-6 συντίθεται επίσης, μεταξύ άλλων, από τα μονοκύτταρα/ μακροφάγα, τους ινοβλάστες, τα Β-κύτταρα, τα περισσότερα επιθηλιακά κύτταρα, συμπεριλαμβανομένων εκείνων του θύμου αδένου, και από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Επάγει τη σύνθεση των πρωτεϊνών οξείας φάσης, τη διαφοροποίηση και αύξηση των Τ-κυττάρων και των Β-κυττάρων και την ενεργοποίηση των οστεοκλαστών (4).

Ο υποδοχέας IL-6R είναι διαμεμβρανικός, ανήκει στην οικογένεια υποδοχέων τύπου αιμοποιητικών αυξητικών παραγόντων και είναι μία πρωτεΐνη της τάξης των 8 kDa. Όταν η IL-6 ενώνεται με αυτόν, τότε ο υποδοχέας αυτός με τη σειρά του συνδέεται με μια μεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη (gp: glycoprotein) των 130 kDa η οποία χαρακτηρίζεται ως πρωτεΐνη προσορμισμού (docking protein) και μεταδίδει το ενδοκυττάριο βιοχημικό σήμα (1).



**Εικόνα 3.2: Τύποι υποδοχέων των χημειοκινών στην κυτταρική μεμβράνη των διαφόρων λευκοκυττάρων.** Στην άνω σειρά διακρίνονται οι τύποι των υποδοχέων των χημειοκινών στα λευκοκύτταρα της κοκκιδώδους σειράς. Στην κάτω σειρά διακρίνονται οι τύποι των υποδοχέων των χημειοκινών στα Τ-λεμφοκύτταρα και οι μεταβολές που παρατηρούνται κατά τη διαφοροποίηση των κυττάρων αυτών.

*Trends Pharmacol. Sci. 20 (2000)*



**Εικόνα 3.3: Σχηματική παράσταση του βιοχημικού σήματος μετά τη διέγερση ενός τυπικού υποδοχέα των χημειοκινών.** Οι χημειοκίνες διεγείρουν επταδιαμεμβρικούς υποδοχείς που συνδέονται με G-πρωτεΐνη και ευρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη των κυττάρων στόχων. Από τη διέγερση αυτή αναπτύσσονται πολλά ενδοκυττάρια σήματα. Το πρώτο βήμα αποτελεί η απόσπαση από τον υποδοχέα της G-πρωτεΐνης η οποία αποτελείται από την α-υπομονάδα και το βγ-σύμπλοκο. Οι επιμέρους αυτές υπομονάδες διεγείρουν ενζυμικά συστήματα όπως είναι η PI3K (Phosphatidylinositol-3-OH Kinase), όπου η βιοχημική οδός που καταλύει οδηγεί στη διέγερση της PKB (Protein Kinase B) και της PLC (Phospholipase C) όπου η αντίστοιχη βιοχημική οδός που καταλύει οδηγεί στην απελευθέρωση του ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$  και στην ενεργοποίηση του κυττάρου. Η διέγερση από το βγ-σύμπλοκο της βιοχημικής οδού RAS και στη συνέχεια MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase) οδηγεί σε άνοιγμα διαύλων ιόντων στην κυτταρική μεμβράνη. Παράλληλα αναπτύσσονται βιοχημικές οδοί που φέρουν το σήμα στον πυρήνα και προάγουν ή αναστέλλουν τη γονιδιακή μεταγραφή και οι οποίοι δεν είναι γνωστοί σε όλες τις λεπτομέρειες.

*Trends Pharmacol. Sci. 20 (2000)*

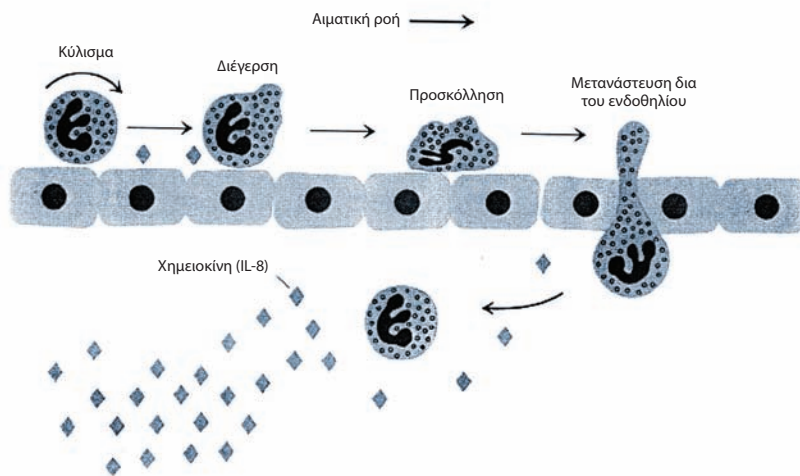
### Χημειοκίνες

Οι χημειοκίνες ή χημειοκινίνες παράγονται από κύτταρα των ιστών και από τα μεταναστεύοντα λευκοκύτταρα σε απάντηση μικροβιακών τοξινών και φλεγμονογόνων κυτταροκινών όπως ο TNF-α και η IL-1. Εχει όμως διαπιστωθεί και η δομική παρουσία τους στον λεμφικό ιστό χωρίς την ύπαρξη των παραπάνω ερεθισμάτων. Στόχος τους είναι η δημιουργία χημειοστακτικού ρεύματος και η μέσω αυτού κινητοποίηση των λευκοκυττάρων για την άμυνα του οργανισμού στη λοίμωξη και τη φλεγμονή. Εκτός της δράσης αυτής, οι χημειοκινίνες προάγουν και κατευθύνουν την εγκατάσταση των T και B - κυττάρων στους λεμφαδένες και ελέγχουν την κίνηση των άωρων λεμφοκυττάρων στους ιστούς όπου και διαφοροποιούνται (7,8).

Οι χημειοκίνες αποτελούν το είδος εκείνο των κυτταροκινών που προάγουν την ενεργοποίηση και τη μετανάστευση των λευκοκυττάρων δια μέσου του ενδοθηλίου προς τους ιστούς. Πρόκειται για πεπτίδια της τάξης των 70-90 αμινοξέων τα οποία διεγείρουν επταδιαμεμβρικούς συνδεδεμένους

με G-πρωτεΐνη υποδοχείς, οι οποίοι ευρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη των κυττάρων του αίματος διαφοροποιημένοι από είδος σε είδος κυττάρου. Το ενδοκυττάριο βιοχημικό τους σήμα μεταδίδεται μέσω της φωσφολιπάσης  $C_{\beta 2}$  (PLC $_{\beta 2}$ : Phospholipase  $C_{\beta 2}$ ) η οποία προάγει την αύξηση του ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$  και την ενεργοποίηση του κυττάρου (2,8,9).

Διακρίνονται σε δύο, κυρίως, επιμέρους υποοικογένειες, την CC και την CXC. Ανάμεσα στις χημειοκίνες συγκαταλέγονται η ιντερλευκίνη-8 (IL-8), η Rantes, η MIP και η NAP. Οι χημειοκίνες της υποοικογένειας CXC στοχεύουν στα ουδετερόφιλα, διεγείρουν τους υποδοχείς CXCR1 και CXCR2, δρουν κυρίως μέσω της IL-8 και αποτελούν βασικούς παράγοντες της οξείας φλεγμονής. Οι χημειοκίνες της υποοικογένειας CC στοχεύουν σε μονοκύτταρα, βασεόφιλα, ηωσινόφιλα και λεμφοκύτταρα και πιστεύεται ότι εμπλέκονται στις χρόνιες και στις αλλεργικές φλεγμονές. Τα ηωσινόφιλα παρουσιάζουν μεγάλο αριθμό υποδοχέων CCR3 που απαντούν επίσης και στα βασεόφιλα. Τα τελευταία έχουν και υποδοχείς CXCR2 που επίσης απαντούν κυρίως στα μονοκύτταρα (8,9).



**Εικόνα 3.4: Μεταναστευτική πορεία των ουδετεροφίλων υπό την επίδραση του χημειοτακτικού ρεύματος των χημειοκινών.** Τα ουδετερόφιλα λευκοκύτταρα υπό την επίδραση του χημειοτακτικού ρεύματος που αναπτύσσεται μετά την ιστική βλάβη εγκαταλείπουν την αιματική κυκλοφορία και πορεύονται προς αυτήν δια μέσου του ενδοθηλίου.

Copyright © 2000 John Wiley & Sons

### **Ανοσορρυθμιστικές κυτταροκίνες**

Οι ανοσορρυθμιστικές κυτταροκίνες σχετίζονται με την ενεργοποίηση, τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των λευκοκυττάρων. Δρουν σε διαμεμβρανικούς υποδοχείς των οποίων το εξωκυττάριο τμήμα έχει σημεία αναγνώρισης και πρόσδεσης των κυτταροκινών, ενώ το ενδοκυττάριο τμήμα τους κινητοποιεί βιοχημικά μονοπάτια (4,10).

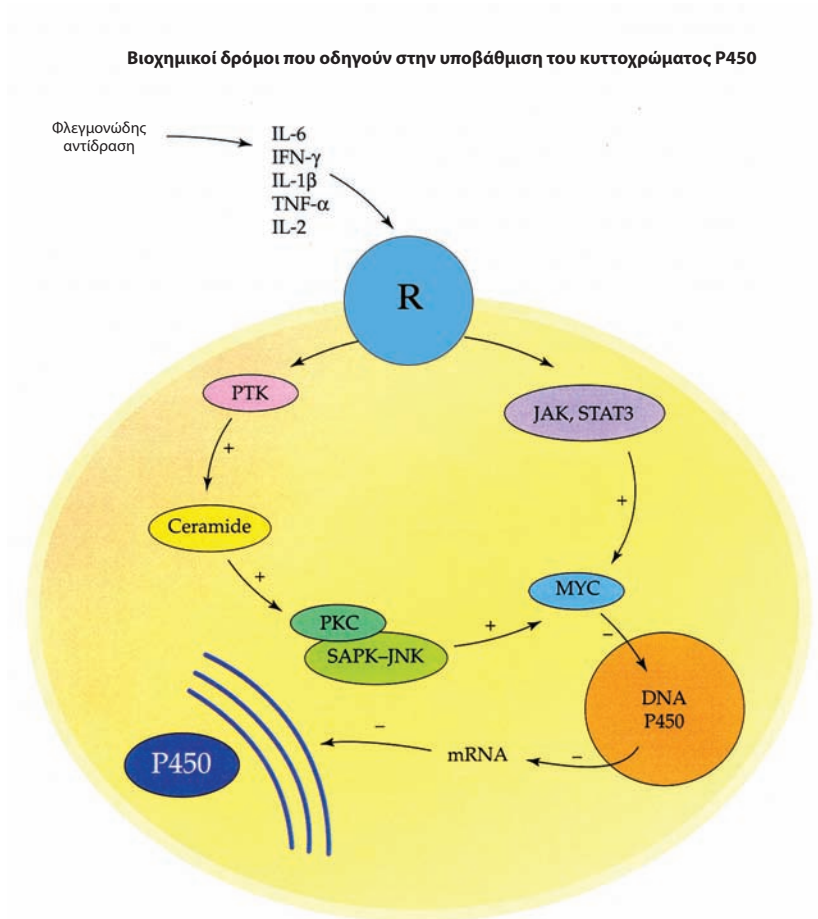
Η IL-2 συντίθεται από τα Τ-λεμφοκύτταρα, τα σιτευτικά κύτταρα και τα βασεόφιλα. Στόχοι της είναι τα Τ-κύτταρα, τα Β-κύτταρα, τα κύτταρα φυσικού φονεΐς (NK cells), τα μονοκύτταρα-μακροφάγα, τα ουδετερόφιλα, τα ηωσινόφιλα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και οι ινοβλάστες. Ο υποδοχέας IL-2R είναι διαμεμβρανικός και ανήκει στην οικογένεια υποδοχέων τύπου αιμοποιητικών αυξητικών παραγόντων. Διεγείρει τη διαφοροποίηση και τον κλωνικό πολλαπλασιασμό των  $T_H2$  βοηθητικών Τ-κυττάρων, διεγείρει την αύξηση και τη μεταβολή των Β κυττάρων Ig τάξης στην τάξη των IgG1 και IgE και ασκεί αντιφλεγμονώδη δράση στα Τ-κύτταρα και τα μονοκύτταρα.

Η IL-10 συντίθεται από τα Τ-κύτταρα, τα μονοκύτταρα-μακροφάγα, τα σιτευτικά κύτταρα και τα κερατινοκύτταρα. Στόχοι της είναι τα Τ-κύτταρα, τα Β-κύτταρα, τα NK-κύτταρα, τα μονοκύτταρα-μακροφάγα και τα σιτευτικά κύτταρα. Αναστέλλει τη διαφοροποίηση των  $T_H1$ -βοηθητικών Τ-κυττάρων και τη σύνθεση των φλεγμονογόνων κυτταροκινών από τα μακροφάγα, περιλαμβανομένων και των IFN $\gamma$ , IL-2, IL-12 και TNF- $\alpha$ . Επίσης αναστέλλει τη δράση του μεταγραφικού παράγοντα NF- $\kappa$ B ο οποίος προάγει τη σύνθεση των φλεγμονογόνων κυτταροκινών, αλλά μεθοδεύει και το ενδοκυττάριο σήμα τους. Καταστέλλει τα τάξεως II αντιγόνα των κυτταροκινών και την έκφραση των B7-1 και B7-2 παραγόντων. Διεγείρει τον πολλαπλασιασμό και τη δράση των σιτευτικών κυττάρων και την ενεργοποίηση και διαφοροποίηση των Β-κυττάρων.

Η IL-15 είναι μια κυτταροκίνη της τάξης των 14-15 kDa η οποία συντίθεται από τα μονοκύτταρα-μακροφάγα, τα σιτευτικά κύτταρα και τους ινοβλάστες. Στόχοι της είναι τα Τ-κύτταρα και τα NK-κύτταρα. Επάγει την ενεργοποίηση και τον πολλαπλασιασμό των Τ-κυττάρων και προάγει την ενεργότητα των δραστικών κυτταροτοξικών κυττάρων (cytotoxic effector cells) και των NK-κυττάρων ομοιάζοντας με την IL-2 σε πολλές βιολογικές δράσεις. Επίσης προάγει την αγγειογένεση.

Η INF $\gamma$  συντίθεται από τα Τ-κύτταρα και τα NK-κύτταρα και στόχος της είναι όλα τα κύτταρα. Ρυθμίζει την ενεργοποίηση των μακροφάγων και των NK-κυττάρων. Διεγείρει την έκκριση της ανοσοσφαιρίνης από τα Β-κύτταρα. Επάγει τα αντιγόνα ιστοσυμβατότητας τάξης II και προάγει τη διαφοροποίηση των  $T_H2$  βοηθητικών Τ-κυττάρων.

Ο παράγοντας TGF- $\beta$  παράγεται από τα περισσότερα κύτταρα και στο-



**Εικόνα 3.5: Μηχανισμοί υποβάθμισης της έκφρασης του κυττοχρώματος P450 από τις κυτταροκίνες.** Οι κυτταροκίνες ενεργοποιούν την JAK (Janus – activated Protein Kinase) και τον STAT3 (Signal Transducer and Activator of Transcription 3). Αυτά επιτείνουν την έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα MYC ο οποίος δρα ανασταλτικά στο γονίδιο που κωδικοποιεί το κυττόχρωμα P450. Παράλληλα, οι κυτταροκίνες αυξάνουν τη συγκέντρωση της κεραμίδης με μηχανισμό που εξαρτάται από την πρωτεϊνική τυροσινική κινάση (PTK: Protein Tyrosine Kinase). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των βιοχημικών οδών που εξαρτώνται από την πρωτεϊνική κινάση C (PKC: Protein Kinase C) και από τις κινάσες SAPK- JNK (SAPK: Stress – Activated Protein Kinase- JNK: Jun-N-terminal Kinase). Οι οδοί αυτές αναβαθμίζουν τον μεταγραφικό παράγοντα MYC. R (Receptor: υποδοχέας).

*Trends Pharmacol. Sci. 20 (2000)*

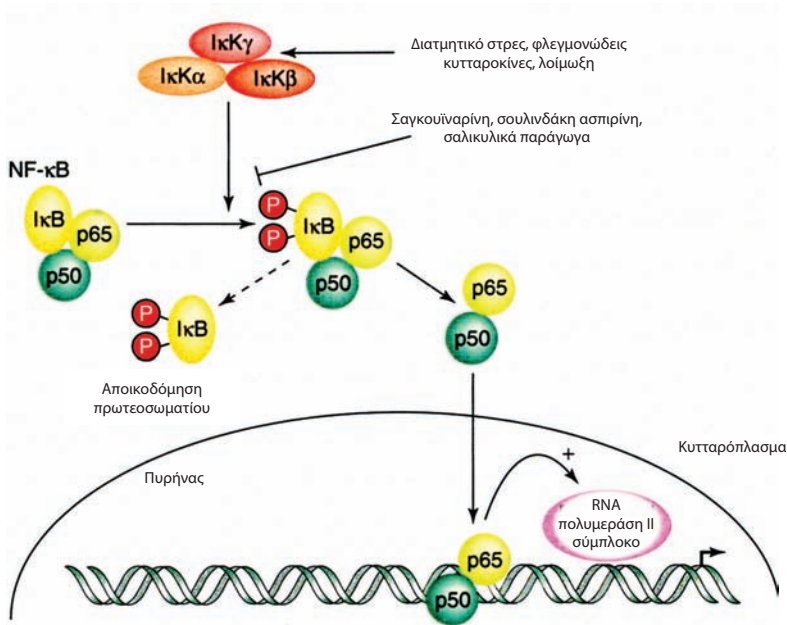
χεύει στα περισσότερα κύτταρα. Καταστέλλει τις αντιδράσεις των Τ-κυττάρων, των μακροφάγων και των κοκκιοκυττάρων. Διεγείρει τη σύνθεση των πρωτεϊνών στρώματος και την αγγειογένεση.

### ***Επίδραση των κυτταροκινών στην ενεργότητα του κυττοχρώματος P450***

Είναι γνωστό ότι το κυττόχρωμα P450 μέσα από τα ισοένζυμα CYP από τα οποία αποτελείται μεταβολίζει έναν μεγάλο αριθμό ουσιών στις οποίες περιλαμβάνονται και πολλά φάρμακα. Επιπλέον, το κυττόχρωμα P450 συμμετέχει στη σύνθεση πολλών ενδογενών ουσιών, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται και ουσίες οι οποίες έχουν σχέση με τη φλεγμονή όπως το αραχιδονικό οξύ, η χοληστερόλη, το οξειδίο του αζώτου και άλλες. Οι κυτταροκίνες που προάγουν τη φλεγμονή, διεγείρουν διάφορους μεταγραφικούς παράγοντες οι οποίοι δρουν ανασταλτικά στη γονιδιακή έκφραση του κυττοχρώματος P450. Κυτταροκίνες όπως ο TNF- $\alpha$ , η IL-1 και η IL-6 ενεργοποιούν την JAK (Janus-Activated protein Kinase) και τον STAT3 (Signal Transducer and Activator of Transcription 3: Μεταγωγέας σήματος και ενεργοποιητής μεταγραφής 3). Αυτά επιτείνουν την έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα MYC ο οποίος δρα ανασταλτικά στο γονίδιο που κωδικοποιεί το κυττόχρωμα P450. Παράλληλα, οι κυτταροκίνες αυξάνουν τη συγκέντρωση της κεραμίδης με μηχανισμό που εξαρτάται από την πρωτεϊνική τυροσινική κινάση (PTK: Protein Tyrosine Kinase). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των βιοχημικών οδών που εξαρτώνται από την πρωτεϊνική κινάση C (PKC: Protein Kinase C) και από τις κινάσες SAPK- JNK (SAPK: Stress-Activated Protein Kinase- JNK: Jun-N-terminal Kinase). Οι οδοί αυτές αναβαθμίζουν τον μεταγραφικό παράγοντα MYC. Η ελάττωση της δραστηριότητας του κυττοχρώματος P450 έχει αρνητική συνέπεια και στο μεταβολισμό των φαρμάκων και αυτό είναι κάτι που πρέπει να λαμβάνεται υπ' όψιν όταν πρέπει να αντιμετωπισθεί μια φλεγμονή (11).

### **ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ**

Οι μεταγραφικοί παράγοντες είναι πρωτεΐνες οι οποίες διεγείρονται από ενδοκυττάρια βιοχημικά σήματα ενεργοποιούνται και διεγείρουν με τη σειρά τους τον προαγωγέα του αντίστοιχου γονιδίου, όπου και επάγουν τη μεταγραφή των πρωτεϊνών που κωδικοποιούνται από τα γονίδια αυτά. Οι συγκεκριμένοι μεταγραφικοί παράγοντες επάγουν τη μεταγραφή μιας σειράς γονιδίων που κωδικοποιούν κυτταροκίνες και χημειοκίνες που εμπλέκονται στην έναρξη και ρύθμιση της φλεγμονώδους αντίδρασης. Ορισμένοι από τους μεταγραφικούς αυτούς παράγοντες συνδέονται τόσο με τους



**Εικόνα 3.6: Μηχανισμός ενεργοποίησης του μεταγραφικού παράγοντα NF-κB.** Ο παράγοντας NF-κB αποτελεί ένα ετεροδιμερές των υπομονάδων p50 και p65 το οποίο ευρίσκεται στο κυτταρόπλασμα με τη μορφή συμπλόκου με την ανασταλτική πρωτεΐνη IκB. Διάφορα φλεγμονογόνα ερεθίσματα ενεργοποιούν ένα σύμπλοκο που αποτελείται από τις κινάσες της IκB (IκKa IκKβ IκKγ). Τότε αυτό στρέφεται προς την πρωτεΐνη IκB την οποία φωσφορυλιώνει και αδρανοποιεί. Με το μηχανισμό αυτό αποδεσμεύεται ο παράγοντας NF-κB και οι υπομονάδες του p50 και p65 μεταφέρονται στον πυρήνα όπου και προάγουν τη μεταγραφή διαφόρων γονιδίων. Φάρμακα όπως η ασπιρίνη, η σουλινδάκη, σαλικυλικά παράγωγα και η σαγκουϊναρίνη δρουν ανασταλτικά στη φωσφορυλίωση της IκB και κατ' επέκταση στην ενεργοποίηση του παράγοντα NF-κB.

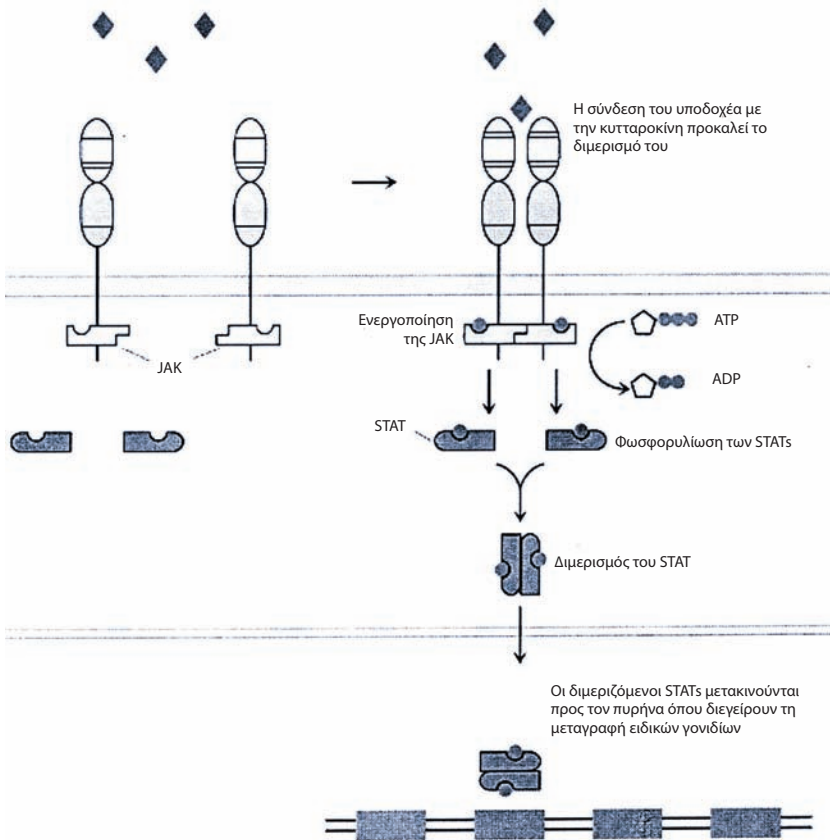
*Trends Pharmacol. Sci. 22:233-240 (2001)*

μηχανισμούς σύνθεσης των φλεγμονογόνων κυτταροκινών στα κύτταρα αποδέκτες των σημάτων της ιστικής βλάβης όσο και με τις βιοχημικές ενδοκυττάρειες οδούς που αναπτύσσονται στα κύτταρα που αποτελούν στόχους των παραπάνω συντιθέμενων κυτταροκινών (12).

Στα κύτταρα αποδέκτες των σημάτων της ιστικής βλάβης, τα σήματα αυτά που έρχονται από τον εξωκυττάριο χώρο διεγείρουν τους υποδοχείς-TLRs (Toll Like Receptors). Οι υποδοχείς αυτοί ενέχονται στην αναγνώριση πολλών μορίων που προέρχονται από μικρόβια όπως είναι οι λιποπολυσακχαρίτες (LPS), τα λιποτειχοϊκά οξέα (LTA: Lipoteichoic Acid), οι πεπτιδογλυκάνες καθώς και το μη μεθυλωμένο μικροβιακό DNA. Οι υποδοχείς-TLRs μεθοδεύουν ενδοκυττάρια βιοχημικά σήματα τα οποία συγκλίνουν στην ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NF-κB και των κινασών της

αμινοτελικής περιοχής του μεταγραφικού παράγοντα Jun (JNKs: c-Jun N-terminal kinases) που σχετίζεται με την AP-1 (12).

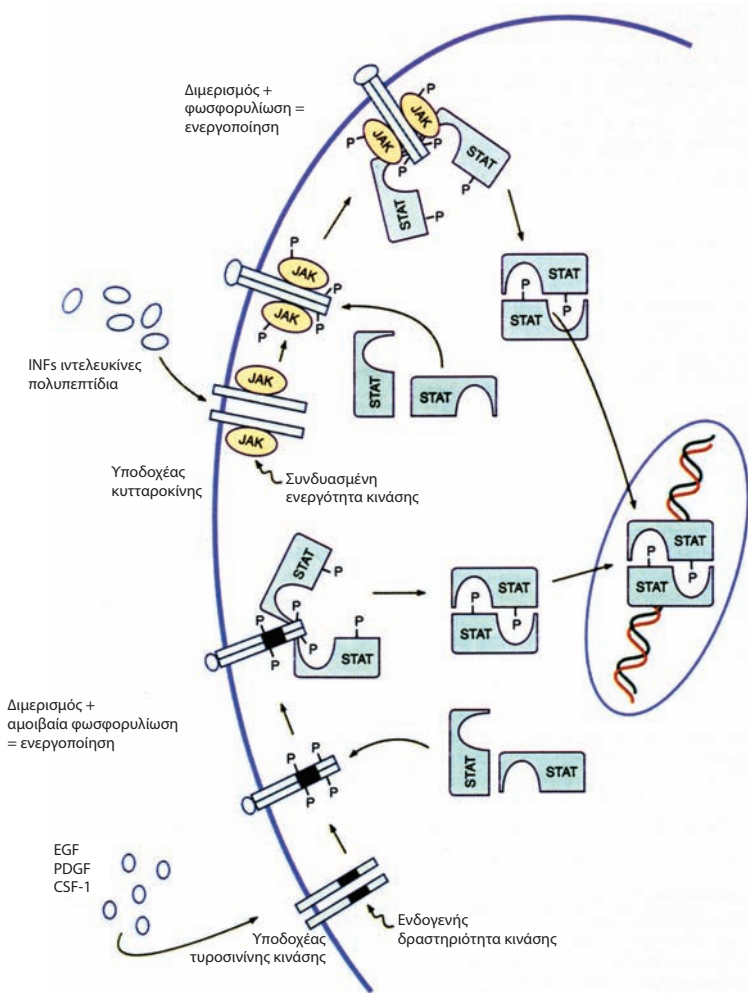
Οι κυριότεροι μεταγραφικοί παράγοντες που συνδέονται με τη σύνθεση των πρωτεϊνών της φλεγμονής και την όλη εξέλιξη αυτής είναι ο NF-κΒ, η AP-1, ο NF-AT και οι STAT. Ο NF-κΒ και η AP-1 ανήκουν σε διαφορετικές πρωτεϊνικές οικογένειες, αλλά έχουν ως κοινό χαρακτηριστικό ότι οι ενδοκυττά-



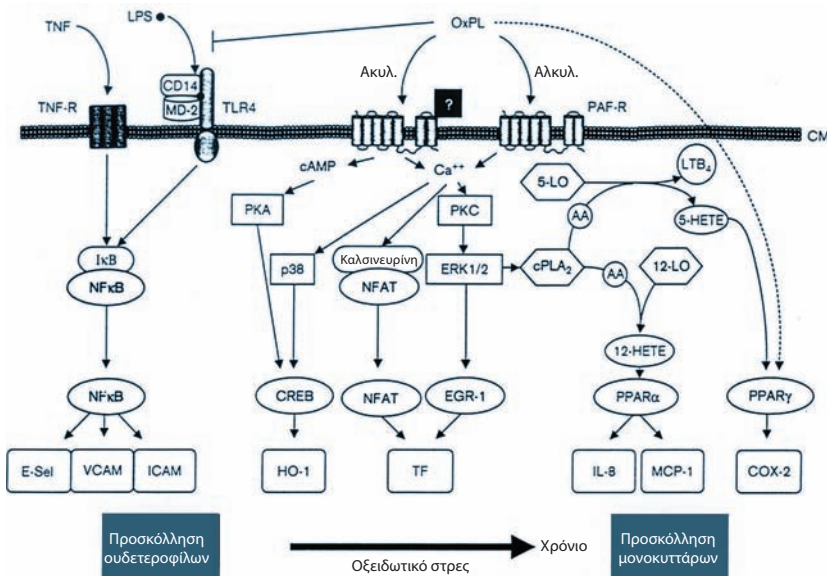
**Εικόνα 3.7: Μηχανισμός ενεργοποίησης του μεταγραφικού παράγοντα STAT.** Η διέγερση του υποδοχέα στην κυτταρική μεμβράνη έχει ως αποτέλεσμα το διμερισμό του και την παραγωγή βιοχημικού σήματος στο κυτταρόπλασμα λόγω ενεργοποίησης της πρωτεϊνικής κινάσης JAK (Janus - Activated Protein Kinase). Το αποτέλεσμα είναι η φωσφορύλιωση του μεταγραφικού παράγοντα STAT, ο διμερισμός του και η μετακίνηση του ομοιοδιμερούς στον πυρήνα όπου και διεγείρει τη γονιδιακή μεταγραφή.

Copyright © 2000 John Wiley & Sons





**Εικόνα 3.8: Μηχανισμοί δράσης του μεταγραφικού παράγοντα STAT.** Ο μεταγραφικός παράγοντας STAT (Signal Transducer and Activator of Transcription) ενεργοποιείται από τις κινάσες της οικογένειας JAK ή από τις τυροσινικές κινάσες των υποδοχέων. Η διέγερση από τις κυτταροκίνες των αντίστοιχων υποδοχέων στην κυτταρική μεμβράνη οδηγεί σε διμερισμό των υποδοχέων και των κινασών JAK που ευρίσκονται στο ενδοκυττάριο πέρασ των υποδοχέων. Οι κινάσες αυτές φωσφορυλιώνουν υπόλοιπα τυροσίνης στο ενδοκυττάριο πέρασ του υποδοχέα. Τα τελευταία χρησιμεύουν ως αγκυροβόλιο για τμήματα του παράγοντα STAT τα οποία προσελκύουν. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται η στράτευση του παράγοντα STAT στον υποδοχέα, ο διμερισμός του και η φωσφορυλίωσή του από τις κινάσες JAK. Οι ενεργοποιημένοι πλέον STAT οδεύουν προς τον πυρήνα και προάγουν τη μεταγραφή γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες της φλεγμονής. Ανάλογοι μηχανισμοί μεθοδεύονται και από την ενζυμική δράση του ενδοκυττάριου πέρατος των υποδοχέων των κυτταροκινών και την ακολουθούσα ενδογενή δράση κινασών.  
*Sigma: Signal Transduction and Neuroscience (1999)*



**Εικόνα 3.9:** Σχηματική αναπαράσταση των διαφορετικών οδών που ακολουθούνται όταν φλεγμονογόνος αιτία είναι οι οξειδωμένες λιποπρωτεΐνες και όταν φλεγμονογόνος αιτία είναι οι μικροβιακοί λιποπολυσακχαρίδες ή ο TNF- $\alpha$ . Η διέγερση του μεταγραφικού παράγοντα NF- $\kappa$ B από τη βιοχημική οδό του TNF- $\alpha$  και των μικροβιακών λιποπολυσακχαριτών οδηγεί σε οξεία φλεγμονώδη αντίδραση που περιλαμβάνει και τη στράτευση των ουδετερόφιλων και των μονοπύρηνων λευκοκυττάρων. Στο επίπεδο του ενδοθηλίου αυτό επιτυγχάνεται κυρίως με την έκφραση των μορίων προσκόλλησης όπως η E-σελεκτίνη και το VCAM-1. Όλα αυτά διαθέτουν θέσεις δέσμησης για τον παράγοντα NF- $\kappa$ B στον προαγωγέα του γονιδίου που τα κωδικοποιεί. Από την άλλη πλευρά, τα οξειδωμένα φωσφολιποειδή μπορούν δυναμικά να προαγάγουν την έκφραση ορισμένων γονιδίων ανεξάρτητα από τη σηματοδότηση που μεθοδεύεται από τον παράγοντα NF- $\kappa$ B και να οδηγήσουν στη χρόνια εξειδικευμένη απάντηση των μονοπύρηνων κυττάρων.

AA (Arachidonic Acid:Αραχιδονικό οξύ),  $Ca^{2+}$ : ιόντα ασβεστίου, CM (Cellular Membrane: κυτταρική μεμβράνη), COX-2 (Cyclooxygenase-2: Κυκλοοξυγενάση-2), cPLA<sub>2</sub> ( Phospholipase A<sub>2</sub>: Φωσφολιπάση A<sub>2</sub>), CREB (cAMP Response Element-Binding Protein: Πρωτεΐνη συνδεόμενη με το στοιχείο ανταπόκρισης του cAMP ), EGR-1 (Early Growth Response protein 1: Πρώιμη αυξητικής ανταπόκρισης πρωτεΐνη 1), ERK (Extracellular Signal- Related Kinase: Κινάση σχετιζόμενη με το εξωκυττάριο σήμα), E-Sel. (E-Selectin: E-σελεκτίνη), HETE (Hydroxyeicosatetraoic: Υδροξυεικοσιτετραοϊκό), HO-1 (Heme Oxygenase: Οξυγενάση της αίμης), ICAM (Intracellular Adhesion Molecule: Ενδοκυττάριο μόριο προσκόλλησης), I $\kappa$ B (Inhibitor of NF $\kappa$ B: Αναστολέας του NF $\kappa$ B), LO (Lipoxygenase: Λιποοξυγενάση), LPS ( Lipopolysaccharide: Λιποπολυσακχαρίδες), LTB<sub>4</sub> (Leukotriene TB<sub>4</sub>: Λευκοτριέν TB<sub>4</sub>), MCP (Monocyte Chemoattractant Protein: Χημειοστακτική πρωτεΐνη των μονοκυττάρων), NFAT (Nuclear Factor of Activated T-cells: Πυρηνικός παράγοντας των ενεργοποιημένων T-κυττάρων), NF- $\kappa$ B (Nuclear Factor- $\kappa$ B: Πυρηνικός παράγοντας-  $\kappa$ B), OxPL (Oxidized Phospholipids: Οξειδωμένα φωσφολιπίδια), PAF-R (Platelet Activated Factor Receptor: Υποδοχέας του ενεργοποιητικού παράγοντα των αιμοπεταλίων) PKA (Protein Kinase C: Πρωτεϊνική κινάση C), PPAR (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor: Υποδοχέας του ενεργοποιημένου πολλαπλασιαστή των υπεροξυσωματίων), TF (Tissue Factor: Ιστικός παράγοντας), TLR-4 (Toll-like Receptor 4: Υποδοχέας 4 δίκην Toll), VCAM (Vascular Cell Adhesion Molecule: Μόριο προσκόλλησης αγγειακού κυττάρου).

*Cur. Opin. Lipidol.* 14:421-430 (2003)

ριες βιοχημικές οδοί που σχετίζονται με αυτούς αφενός μεν ενεργοποιούνται από κοινούς αγωνιστές, όπως είναι ο TNF- $\alpha$  και η IL-1, αφετέρου επικοινωνούν μεταξύ τους. Οι βιοχημικές αυτές οδοί καταλήγουν στη μεταγραφή και τη σύνθεση πρωτεϊνών όπως οι κυτταροκίνες, τα μόρια προσκόλλησης, οι μεταλλοπρωτεϊνάσες, οι αυξητικοί παράγοντες και ένζυμα που προάγουν τη σύνθεση προσταγλανδινών, λευκοτριενών και NO, δηλαδή όλων των μεσολαβητών της φλεγμονής.

Ο μεταγραφικός παράγοντας NF- $\kappa$ B (Nuclear Factor- $\kappa$ B) ο οποίος αποτελείται από το ετεροδιμερές των πρωτεϊνών p50 και p65 φαίνεται ότι δραματίζει κύριο ρόλο στην ενεργοποίηση των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες οι οποίες συνδέονται με τη φλεγμονή, την ανοσιακή απόκριση και τον κυτταρικό κύκλο. Ο παράγοντας αυτός ενεργοποιείται όταν κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος έλθουν σε επαφή με LPS των μικροβίων, μολυνθούν από ιούς, διεγερθούν από κυτταροκίνες όπως ο TNF- $\alpha$  και η IL-1 ή δεχθούν ακτινοβολία. Όταν ο NF- $\kappa$ B ενεργοποιείται, τότε αποχωρίζεται από το σύμπλοκο που σχηματίζει με την ανασταλτική πρωτεΐνη I $\kappa$ B η οποία απαντά σε πολλούς τύπους. Η αποδέσμευση γίνεται με φωσφορύλιωση της πρωτεΐνης I $\kappa$ B, η οποία ακολούθως διασπάται πρωτεολυτικά από το πρωτεοσωμάτιο. Στη συνέχεια ο NF- $\kappa$ B έρχεται στον πυρήνα και διεγείρει τη γονιδιακή μεταγραφή. Ο NF- $\kappa$ B ενεργοποιείται γρήγορα, ελέγχει μεγάλο φάσμα γονιδίων και η μη σωστή ενεργοποίησή του καταλήγει σε παθολογικές καταστάσεις (13-16).

Η AP-1 (Activator Protein-1) αποτελεί μεταγραφικό παράγοντα ο οποίος ανήκει σε διαφορετική ομάδα από τον προηγούμενο. Η AP-1 ανήκει στον τύπο των βασικών πρωτεϊνών με φερμουάρ λευκίνης (bZIP: basic Zipper) που συνδέονται με το DNA και διεγείρουν τη μεταγραφή. Προάγει τη μεταγραφή γονιδίων τα οποία διέπουν τον πολλαπλασιασμό, τη φλεγμονή και την απόπτωση των κυττάρων. Μεταξύ άλλων, τα γονίδια αυτά κωδικοποιούν αυξητικούς παράγοντες, πρωτεΐνες στρώματος και πρωτεΐνες της φλεγμονής, όπως είναι οι κυτταροκίνες, η COX-2, η PLA<sub>2</sub>, η NOS και άλλες. Η AP-1 αποτελεί ετεροδιμερές των πρωτεϊνών FOS και JUN. Πρόκειται για πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται από τα ογκογονίδια fos και jun ύστερα από ενεργοποίηση της ενδοκυττάριας βιοχημικής οδού των κινασών. οι οποίες έχουν προηγουμένως ενεργοποιηθεί από το μιτογόνο (MAPK: Mitogen Activated Protein Kinase). Αυτές που σχετίζονται με την AP-1 είναι η p38 και η JNK (Jun N-terminal kinase). Μεταξύ των υποδοχέων που προάγουν την ενεργοποίηση της AP-1 περιλαμβάνεται και ο υποδοχέας της IL-1 ο οποίος συνδέεται με την IRAK (IL-1 Receptor Associated Kinase) η οποία κινητοποιεί το βιοχημικό σήμα. Υπάρχει επίσης διασταύρωση μεταξύ των βιοχημικών οδών που καταλήγουν στην ενεργοποίηση του NF- $\kappa$ B και της AP-1. Αυτό

γίνεται πριν τα βιοχημικά αυτά σήματα φθάσουν και ενεργοποιήσουν τους παράγοντες αυτούς. Η βιοχημική οδός που θα ενεργοποιήσει τον παράγοντα NF-κB στέλνει σήματα προς την οδό που θα ενεργοποιήσει την AP-1 με τη μεσολάβηση του παράγοντα TRAF2 που είναι μέλος της οικογένειας των πρωτεϊνών με δακτύλιο ψευδαργύρου TRAFs (TNF-α Receptor Associated Superfamily). Παράλληλα η βιοχημική οδός που θα ενεργοποιήσει την AP-1 στέλνει σήματα προς την οδό που θα ενεργοποιήσει τον NF-κB με τη μεσολάβηση του παράγοντα TRAF6 (16,17).

Ο μεταγραφικός παράγοντας NF-AT (Nuclear Factor of Activated T cells) αποτελείται από δύο στοιχεία: ένα κυτταροπλασματικό NF-ATc και ένα πυρηνικό NF-ATn. Ο NF-ATc αποτελεί το υπόστρωμα μιας φωσφατάσης που ονομάζεται καλσινευρίνη. Η διέγερση του TCR- υποδοχέα στην κυτταρική μεμβράνη προκαλεί την αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάριου  $Ca^{2+}$  και την ενεργοποίηση της φωσφατάσης η οποία στη συνέχεια αποφωσφορυλιώνει τον NF-ATc. Ο τελευταίος ενεργοποιούμενος εισέρχεται στον πυρήνα και συνδέεται με το πυρηνικό συστατικό του NF-ATn σχηματίζοντας το τελικό σύμπλεγμα του NF-AT. Το σύμπλεγμα αυτό δρα στο DNA και προάγει τη μεταγραφή της IL-2 και του αντίστοιχου υποδοχέα της (18).

Οι μεταγραφικοί παράγοντες STAT (Signal Transducers and Activators of Transcription) προάγουν μεταγραφικές διαδικασίες που αφορούν την εξέλιξη των λεμφοκυττάρων. Ενεργοποιούνται από τις τυροσινικές κινάσες JAK. Οι τελευταίες αποτελούν, μεταξύ άλλων, τα σημεία σύνδεσης των υποδοχέων των κυτταροκινών της οικογένειας των τύπου αιμοποιητικών αυξητικών παραγόντων και των ενδοκυττάριων βιοχημικών οδών που συνδέονται με αυτούς τους υποδοχείς. Οι υποδοχείς αυτοί διεγείρονται, μεταξύ άλλων, και από τις IL-2 και IL-6. Παράλληλα, οι τυροσινικές κινάσες JAK διεγείρουν και άλλες ενδοκυττάριες βιοχημικές οδούς, όπως εκείνη που ενεργοποιείται από το μιτογόνο MAPK (1,4).

## ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ

Είναι εύκολα αντιληπτό ότι οι δυνατότητες εκλεκτικών φαρμακολογικών παρεμβάσεων στα διάφορα σημεία σύνθεσης και δράσης των κυτταροκινών θα μπορούσαν να θέσουν υπό έλεγχο την ανοσιακή απόκριση και κατ'επέκταση τη φλεγμονή. Η πιθανή σύνθεση ανάλογων φαρμάκων θα μπορούσε να έχει ανασταλτικό ρόλο στις χρόνιες φλεγμονές, στις αυτοανοσιακές νόσους, στις αλλεργικές παθήσεις και στο AIDS.

Ένα άλλο θέμα το οποίο αποτελεί αντικείμενο έρευνας αφορά στον πολυμορφισμό των γονιδίων που κωδικοποιούν τις διάφορες κυτταροκίνες.

Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη διαφοροποιημένη αντίδραση πολλών ασθενών στον ίδιο βλαπτικό παράγοντα. Ο εντοπισμός παρόμοιων φαρμακολογικών στόχων θα δώσει τη δυνατότητα ταυτοποίησης παρόμοιων ομάδων ασθενών οι οποίοι και θα επωφεληθούν περισσότερο από τη σύνθεση και τη χρήση των αντίστοιχων φαρμάκων αγωνιστών ή ανταγωνιστών (19).

Οι φαρμακολογικοί στόχοι όσον αφορά στις κυτταροκίνες είναι δύο ειδών. Ο πρώτος αφορά στην ενίσχυση της δράσης των κυτταροκινών, ώστε να κινητοποιηθεί το αμυντικό σύστημα για την αντιμετώπιση της οξείας φάσης της φλεγμονής ιδιαίτερα σε άτομα με ελαττωμένη ανοσιακή απόκριση. Ο δεύτερος αφορά στην αναστολή της δράσης ορισμένων κυτταροκινών κυρίως στις χρόνιες φλεγμονές, ώστε να σταματήσει η ανακύκλωση των φλεγμονωδών φαινομένων.

### **Διέγερση της δράσης των κυτταροκινών**

Οι φαρμακολογικοί τρόποι για την ενίσχυση του αμυντικού συστήματος συνίστανται στη χορήγηση ορισμένων κυτταροκινών όπως ο G-CSF, ο M-CSF, ο GM-CSF και η IFN $\gamma$ . Άλλα από αυτά δοκιμάζονται σε πειραματόζωα ή ευρίσκονται σε διάφορες κλινικές φάσεις έρευνας, ενώ ορισμένα από αυτά χρησιμοποιούνται. Μεταξύ των ενεργειών των παραγώγων αυτών έχει καταγραφεί, πλην της διεγερτικής δράσης στα κύτταρα της φλεγμονής, και παράταση της ζωής αυτών λόγω ανασταλτικών ενεργειών που ασκούν οι ουσίες αυτές στους μηχανισμούς της απόπτωσης.

Όπως ήδη αναφέρθηκε, ορισμένα παράγωγα έχουν περάσει στην κλινική χρήση και χρησιμοποιούνται με επιτυχία σε ορισμένες περιπτώσεις μεταξύ των οποίων και οι φλεγμονές με σηπτικά φαινόμενα. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται ανασυνδυασμένες μορφές αυξητικών παραγόντων και παράγωγα της ιντερφερόνης (20-26).

Ο αυξητικός παράγοντας G-CSF διεγείρει τον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και τη λειτουργία των κυττάρων της κοκκιδώδους σειράς. Μια ανασυνδυασμένη μορφή του GM-CSF, η σαργκραμοστίνη, η οποία είναι μια γλυκοπρωτεΐνη με 127 αμινοξέα, έχει στην κλινική πράξη διεγερτικό αποτέλεσμα στη μυελοποίηση μειώνοντας κυρίως την ουδετεροπενία και χρησιμοποιείται στις μεταμοσχεύσεις μυελού των οστών και στις χημειοθεραπείες για την ενίσχυση του ανοσιακού συστήματος. Επίσης η φιλγκραστίνη, η οποία είναι επίσης μια γλυκοπρωτεΐνη με 175 αμινοξέα και αποτελεί την ανασυνδυασμένη μορφή του G-CSF, διεγείρει τις μονάδες σχηματισμού των αποικιών ώστε να αυξηθεί η παραγωγή ουδετεροφίλων. Επιτείνει τις φαγοκυτταρικές και κυτταροτοξικές δράσεις των κυττάρων αυτών. Στην κλινική πράξη έχει αποδειχθεί αποτελεσματική στις σοβαρές ουδετεροπενίες ύστερα από μεταμοσχεύσεις μυελού των οστών και χημειοθεραπείες. Η ακριβής θεραπευτική

αξία ανάλογων αυξητικών παραγόντων καθώς και οι διάφοροι συνδυασμοί οι οποίοι προτείνονται ή δοκιμάζονται χρειάζονται διερεύνηση.

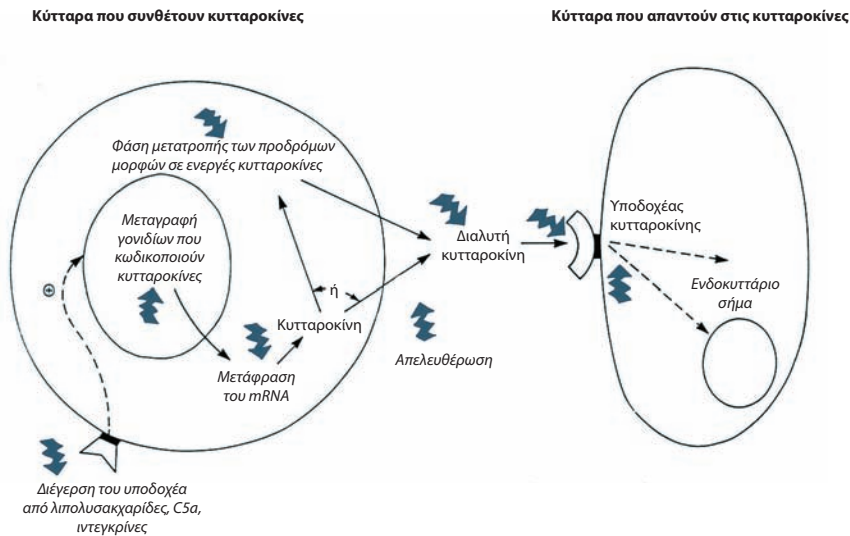
Οι ιντερφερόνες διεγείροντας τους υποδοχείς τους στην κυτταρική μεμβράνη προάγουν, μεταξύ άλλων, τη φαγοκυτταρική ικανότητα των μακροφάγων και την ειδική κυτταροτοξική ικανότητα των Τ-λεμφοκυττάρων. Η ανασυνδυασμένη μορφή της ιντερφερόνης α-2b χρησιμοποιείται, μεταξύ άλλων, σε μολυσματικές ασθένειες όπως η χρόνια ηπατίτιδα τύπου Β και σε συνδυασμό με τη ριβαβιρίνη στη χρόνια ηπατίτιδα τύπου C. Η ανασυνδυασμένη ιντερφερόνη γ-1b ενεργοποιεί τα φαγοκύτταρα και προάγει τη σύνθεση από αυτά ελεύθερων οξειδωτικών ριζών. Συνιστάται στην αντιμετώπιση σοβαρών λοιμώξεων που σχετίζονται με τη χρόνια κοκκιωματώδη νόσο.

### ***Αναστολή της δράσης των κυτταροκινών***

Οι φαρμακολογικοί στόχοι οι οποίοι αφορούν στον εκλεκτικό περιορισμό της δράσης των κυτταροκινών μπορούν να διακριθούν σε τρεις κατηγορίες. Η πρώτη αφορά στο κύτταρο που συνθέτει τη συγκεκριμένη κυτταροκίνη, η δεύτερη στις κυκλοφορούσες κυτταροκίνες και η τρίτη στο κύτταρο στόχο που διεγείρεται από την παραγόμενη κυτταροκίνη. Στην πρώτη περίπτωση, στόχοι είναι οι υποδοχείς στους οποίους δρουν τα διάφορα ερεθίσματα που προάγουν τη σύνθεση των κυτταροκινών, τα γονίδια που μεταγράφονται, το συντιθέμενο σε κάθε περίπτωση mRNA, η διαδικασία ωρίμανσης των συντιθεμένων κυτταροκινών και οι μηχανισμοί απελευθέρωσής τους. Στη δεύτερη περίπτωση, στόχος είναι η δέσμευση των κυκλοφορούσων κυτταροκινών με ανάλογες πρωτεΐνες και ο ανταγωνισμός τους από άλλες κυτταροκίνες. Στην τρίτη περίπτωση, στόχος είναι ο αποκλεισμός των υποδοχέων στο κύτταρο αποδέκτη και παρεμβάσεις στις ενδοκυττάριας βιοχημικές οδούς που αυτές ενεργοποιούν (3,4).

### ***1. Φαρμακολογικές παρεμβάσεις στο επίπεδο των υποδοχέων που διεγείρονται για να συντεθούν οι κυτταροκίνες***

Η σύνθεση φαρμάκων τα οποία θα δρουν ως αποκλειστές των υποδοχέων, η διέγερση των οποίων οδηγεί στη σύνθεση κυτταροκινών, αποτελεί αντικείμενο έρευνας. Μεταξύ των στόχων της έρευνας αυτής είναι το σύμπλοκο του υποδοχέα CD3 των Τ-κυττάρων, ο οποίος έχει σχέση με τη σύνθεση της IL-2. Στόχοι επίσης στα λεμφοκύτταρα είναι και οι υποδοχείς επιφάνειας CD44 και CD45, οι οποίοι έχουν σχέση με τη σύνθεση κυτταροκινών.



**Εικόνα 3.10:** Σημεία στόχοι για φαρμακολογικές παρεμβάσεις (🔪) στους μηχανισμούς σύνθεσης, απελευθέρωσης και δράσης των κυτταροκινών. Ο,τι απεικονίζεται με μπλέ βέλη, υποδεικνύει τους στόχους της έρευνας που διεξάγεται, εδώ και πολλά χρόνια, για τη σύνθεση φαρμάκων που θα παρεμβαίνουν εκλεκτικά.

*Trends Pharmacol. Sci.* 13:145-151 (1992)

## 2. Δέσμευση των μορίων των απελευθερούμενων κυτταροκινών πριν φθάσουν στα κύτταρα στόχους

Σε έρευνα ή κλινικές δοκιμασίες ευρίσκονται αντισώματα καθώς επίσης και τμήματα αντισωμάτων ενάντια στις κυκλοφορούσες κυτταροκίνες.

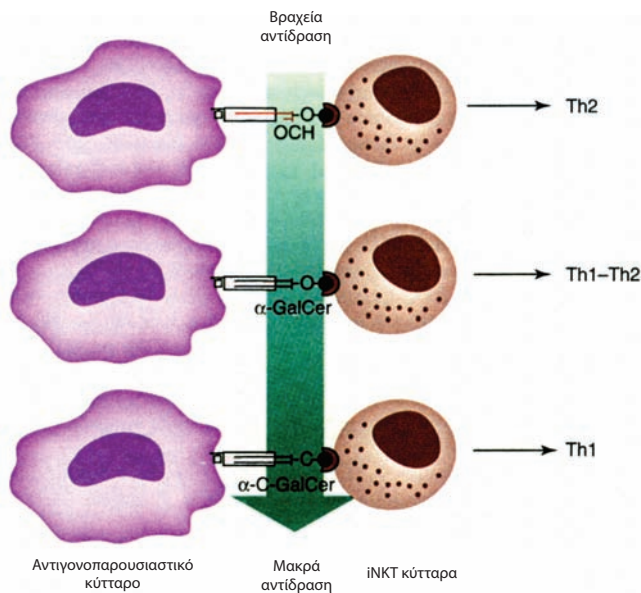
Η ινφλιξικάβη είναι ένα χιμαιρικό μονοκλωνικό αντίσωμα το οποίο περιέχει ένα σταθερό ανθρώπινο τμήμα και ένα μεταβλητό από ποντίκι. Συνδέεται με μεγάλη συγγένεια με τον TNF-α και τον εμποδίζει να συνδεθεί με τον υποδοχέα του. Ανάλογο μηχανισμό δράσης έχουν και προϊόντα όπως η ετανερσέπτη και η αλεφασέπτη, οι οποίες όμως δεν είναι μονοκλωνικά αντισώματα. Πρόκειται για υβριδικές πρωτεΐνες που περιέχουν την περιοχή σύνδεσης του υποδοχέα του TNF-α στον άνθρωπο συνδεδεμένη με το Fc τμήμα της ανθρώπινης IgG<sub>1</sub>. Και αυτά ενώνονται με τον TNF-α και τον εμποδίζουν να συνδεθεί με τον υποδοχέα του. Χρησιμοποιούνται υπό προϋποθέσεις σε αυτοάνοσες παθήσεις όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα και η νόσος του Crohn (26).

## 3. Εκλεκτική απελευθέρωση κυτταροκινών

Τα iNKT (Invariant Natural Killer T-cells) αποτελούν έναν υποπληθυσμό των T-λεμφοκυττάρων. Χαρακτηριστικό των κυττάρων αυτών είναι το γεγονός

ότι αντιδρούν με γλυκολιπίδια των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων και καθώς ενεργοποιούνται παράγουν και απελευθερώνουν κυτταροκίνες τόσο τύπου Th1 όσο και τύπου Th2. Τα iNKT κύτταρα φέρουν το σύμπλοκο CD1 που ομοιάζει με τα MHC τύπου 1 ως προς τη δομή που επίσης αποτελείται από μια βαριά αλυσίδα σε συνδυασμό με μια αλυσίδα της β2-μικροσφαιρίνης, ενώ διαφέρει από αυτά ως προς τους θύλακες σύνδεσης με το αντιγόνο. Ομοιάζει επίσης με τα MHC τύπου 2 γιατί φορτώνεται με αντιγόνα στα ενδοκυτταρικά τμήματα. Ενώ όμως τα MHC τύπου 1 και τα MHC τύπου 2 συνδέονται με μικροπεπτίδια, τα CD1 συνδέονται με λιπιδικά αντιγόνα. Επίσης, τα iNKT κύτταρα φέρουν τον υποδοχέα iTCR (invariant T-cell Receptor) ο οποίος έχει μια α-αλυσίδα που κωδικοποιείται από τα γονίδια Va24 και Ja18, ενώ έχουν και υποδοχείς που απαντούν και στα NK (Natural Killer) κύτταρα. Κατά την επαφή με τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα, δημιουργείται ένα σύμπλοκο γλυκολιπιδίου- CD1 - iTCR (27).

Ένα συνθετικό γλυκολιπίδιο, η α-γαλακτοσυλκεραμίδα (α-GalCer), έχει τη δυνατότητα να συνδέεται με το CD1 στην επιφάνεια των iNKT κυττάρων και να προάγει την απελευθέρωση κυτταροκινών τύπου Th1 όπως η ιντερφερόνη IFN $\gamma$  και η ιντερλευκίνη IL-12 που προάγουν την κυτταρική ανοσι-



**Εικόνα 3.11: Εκλεκτική απελευθέρωση κυτταροκινών.** Μοντέλο σύνδεσης των α-GalCer, OCH και α-C-GalCer με το CD1 των iNKT (invariant Natural Killer T cells) κυττάρων. Η σταθερότητα των σχηματιζόμενων συμπλόκων προσδιορίζει και το είδος των κυτταροκινών που συντίθενται και απελευθερώνονται.

*Trends Pharmacol. Sci.* 26:352-257 (2005)



ακή απόκριση που καταλήγει στην απομάκρυνση ιών και ενδοκυτταρικών παθογόνων. Επίσης, το γλυκολιπίδιο αυτό προάγει την απελευθέρωση κυτταροκινών τύπου Th2 όπως η ιντερλευκίνη IL-4 που προάγει τη χυμική ανοσιακή απόκριση, η οποία, με τη σειρά της, μεθοδεύει τον πολλαπλασιασμό της παραγωγής των αντισωμάτων (27).

Το πρόβλημα με τις δράσεις αυτές της *a*-GalCer είναι ότι υπάρχει ανταγωνισμός μεταξύ των Th1 και Th2 ανοσιακών αποκρίσεων που δημιουργεί περισσότερα προβλήματα από τις λύσεις που δίνει. Οι παρατηρήσεις αυτές οδήγησαν στο σκεπτικό για εκλεκτικές παρεμβάσεις. Δύο νέα συνθετικά προϊόντα φαίνεται να δίνουν ελπίδες για καλύτερα αποτελέσματα. Το ένα είναι ένα λιπίδιο, ανάλογο με την *a*-GalCer, με βάση τη σφιγκοσίνη και με το κωδικό όνομα OCH και το άλλο είναι το *c*-γλυκοσιδικό παράγωγο της *a*-GalCer, η *a*-C-GalCer. Το OCH προάγει την απελευθέρωση από τα iNKT κύτταρα της ιντερλευκίνης IL-4 και δίνει υποσχέσεις για τη μελλοντική αντιμετώπιση των αυτοανοσιακών παθήσεων. Αντίθετα, η *a*-C-GalCer προάγει την απελευθέρωση από τα iNKT κύτταρα και από τη στη συνέχεια διέγερση των NK κυττάρων την ιντερφερόνης IFN $\gamma$  και την ιντερλευκίνη IL-12 και δίνει υποσχέσεις για τη μελλοντική αντιμετώπιση φλεγμονωδών παθήσεων και νεοπλασμάτων. Η διαφορετική συμπεριφορά των δύο αυτών παραγώγων φαίνεται να οφείλεται στον διαφορετικό βαθμό σύνδεσής τους με το CD1 που καθορίζει τη σταθερότητα, άρα και το χρόνο δράσης του συμπλόκου γλυκολιπίδιο-CD1-iTCR. Η σταθερότητα του συμπλόκου OCH-CD1-iTCR είναι σαφώς ασθενέστερη σε σχέση με την αντίστοιχη του συμπλόκου *a*-C-GalCer-CD1-iTCR. Η έρευνα συνεχίζεται και υπάρχουν βάσιμες ελπίδες ότι τα πειραματικά ευρήματα θα μπορέσουν να περάσουν και στην κλινική πράξη (27).

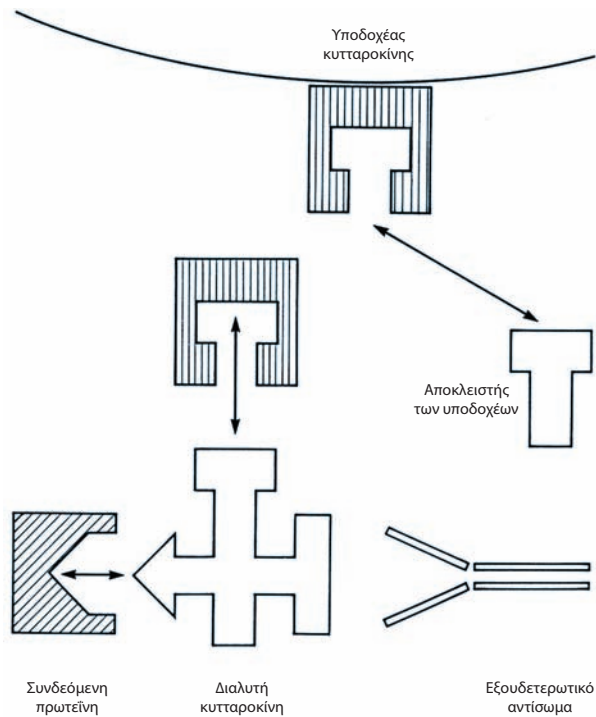
#### ***4. Αποκλεισμός των υποδοχέων που διεγείρονται από τις φλεγμονογόνες κυτταροκίνες και τους μεσολαβητές της φλεγμονής, για να διεγερθούν κύτταρα στόχοι***

Πρόκειται για παρεμβάσεις οι οποίες ευρίσκονται στο στάδιο της έρευνας. Πιστεύεται ότι η μοριακή κλωνοποίηση των υποδοχέων των κυτταροκινών θα δώσει θεραπευτικούς συνθετικούς αποκλειστές των υποδοχέων αυτών με βάση τη δομή του υποδοχέα. Οσον αφορά στις φλεγμονογόνους κυτταροκίνες, η νατριούχος τενιτάπη, η οποία ευρίσκεται σε φάση κλινικών δοκιμασιών, δρα πιθανόν ως αποκλειστής των υποδοχέων της IL-1 (20,28).

Οι κινάσες Janus (JAK) αποτελούν μια μικρή οικογένεια κινασών που συνδέονται με τους διαμεμβρανικούς υποδοχείς των φλεγμονογόνων κυτταροκινών και μεθοδεύουν τις φωσφορυλιώσεις εκείνες οι οποίες είναι απαραίτητες για να αναπτυχθεί το ενδοκυττάριο βιοχημικό σήμα. Η JAK3,

μέλος της οικογένειας αυτής των κινασών, συνδέεται με την κοινή γ-αλυσίδα των ενδοκυττάρων τμημάτων των υποδοχέων των κυτταροκινών και παίζει σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη των Τ-λεμφοκυττάρων και την ομοίωση του ανοσιακού συστήματος. Η JAK3 αποτελεί τα τελευταία χρόνια στόχο για φαρμακολογικές παρεμβάσεις. Τα προϊόντα τα οποία ελπίζεται ότι θα προκύψουν, θα στοχεύουν στην ανοσοκαταστολή που απαιτείται για τις μεταμοσχεύσεις οργάνων και στην ανοσοτροποποίηση σε αυτοάνοσες διαταραχές (29).

Οι παρεμβάσεις στο σημείο σύνδεσης των κινασών με τα νουκλεοτίδια αποτελούσαν πάντοτε προσφιλείς στόχους για την ανάπτυξη νέων φαρμάκων. Όμως, η JAK3, όπως και οι άλλες JAKs, παρουσιάζει μια μοριακή δομή η οποία αποτελείται από 7 διαφορετικά τμήματα. Η ενδοεπικοινωνία των τμημάτων αυτών είναι σημαντική για τη λειτουργική δράση των κινασών αυτών. Ως εκ τούτου, η τροποποίηση της δράσης της JAK3 θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί χωρίς να γίνουν παρεμβάσεις σε καταλυτικά σημεία.

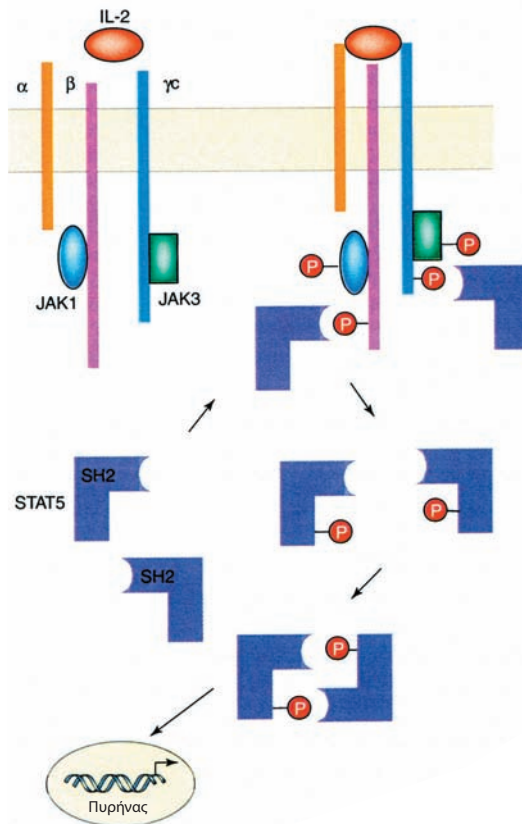


**Εικόνα 3.12: Μηχανισμοί φαρμακολογικής εξουδετέρωσης απελευθερούμενων κυτταροκινών.** Εξουδετέρωση των απελευθερούμενων κυτταροκινών με αντισώματα και αποκλεισμός των υποδοχέων τους είτε υπό τη διαλυτή μορφή είτε υπό τη σταθερή μορφή στην κυτταρική μεμβράνη του κυττάρου στόχου με φάρμακα που δρουν ως αποκλειστές.

*Trends Pharmacol. Sci. 13:145-151 (1992)*

Μεταξύ των μη καταλυτικών περιοχών, που αποτελούν σήμερα στόχους έρευνας για τη σύνθεση νέων φαρμάκων, περιλαμβάνονται το τμήμα SH2 και η αμινοτελική περιοχή (29).

Το τμήμα SH2 συνιστά μια τροποποιητική πρωτεΐνη που συνδέεται με πεπτιδία που περιέχουν φωσφοτυροσίνη με συγγένεια που εξαρτάται από



**Εικόνα 3.13: Σχηματική παράσταση της σηματοδοτικής οδού JAK-STAT που κινητοποιείται από τη διέγερση του υποδοχέα της IL-2. Φαρμακολογικοί στόχοι.** Η σύνδεση της IL-2 με τις αλυσίδες α, β, και κοινή γ (γc) φέρνει τις JAKs τη μία κοντά στην άλλη με αποτέλεσμα τη διέγερσή τους, τη αυτοφωσφορυλίωσή τους και κατ' επέκταση τη φωσφορυλίωση της SH2 περιοχής των μεταγραφικών παραγόντων STATs από τις ενεργοποιημένες JAKs. Οι φωσφορυλιωθέντες STATs διμερίζονται μέσω των περιοχών SH2 και μετακινούνται προς τον πυρήνα όπου και προάγουν τη μεταγραφή, καθώς ενώνονται με ειδικά στοιχεία του DNA. Το σύστημα JAK-STATs προκαλεί ένα ταχύ σήμα που ελέγχεται ισχυρά από διάφορα ρυθμιστικά μόρια, που δεν απεικονίζονται εδώ, ώστε να αποφευχθεί η υπερβολική διέγερση. Τα μόρια αυτά περιλαμβάνουν καταστολείς του σήματος των κυτταροκινών, πρωτεΐνες αναστολείς των ενεργοποιηθέντων STATs και πρωτεϊνικές τυροσινοφωσφατάσες. Η JAK3 αποτελεί σήμερα στόχο για φαρμακολογικές παρεμβάσεις. JAK: Janus Kinase, STATs: Signal Transducers and Activators of Transcription.  
*Trends Pharmacol. Sci. 25:558-562 (2004)*

το καρβοξυλικό πέρας. Η αμινοτελική περιοχή είναι απαραίτητη για τη σύνδεση της JAK3 με το κυτταροπλασματικό πέρας των υποδοχέων των κυτταροκινών και τη σταθερότητα του μορίου των κινασών αυτών. Ιδιαίτερα, η πρώτη ιδιότητα οφείλεται στο ότι η αμινοτελική περιοχή περιέχει ένα μικρό τμήμα από 200 υπόλοιπα αμινοξέων.

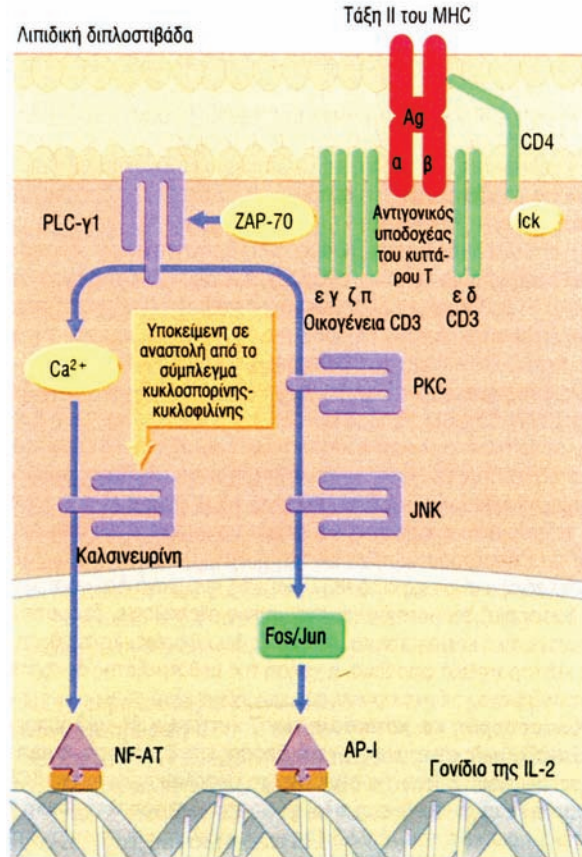
Φάρμακα αναστολείς της δράσης της JAK3 ευρίσκονται σήμερα σε διάφορα στάδια έρευνας. Το ζητούμενο είναι η ανεύρεση φαρμάκων με αυξημένη εκλεκτικότητα, ισχυρή *in vivo* δράση και μειωμένη τοξικότητα (29).

Αλλά και οι υποδοχείς των χημειοκινών αποτελούν σήμερα στόχους για την ανάπτυξη φαρμάκων αποκλειστών με εκλεκτική παρέμβαση. Είναι γνωστό ότι διαταραχές στους μοριακούς μηχανισμούς δράσης των χημειοκινών οδηγούν, μεταξύ άλλων, και σε χρόνιες φλεγμονές. Ειδικότερα, η ανακάλυψη ότι ο ιός του AIDS χρησιμοποιεί ως πύλη εισόδου υποδοχέα των χημειοκινών έδωσε νέα ώθηση στην έρευνα στο πεδίο αυτό. Σε φάση έρευνας από τη φαρμακευτική βιομηχανία είναι η αναζήτηση και η σύνθεση μικρών μορίων τα οποία θα μπορέσουν να δράσουν ως αποκλειστές των υποδοχέων των χημειοκινών. Τροποποιήσεις στην αμινοτελική περιοχή των χημειοκινών οδήγησαν μέχρι σήμερα στη σύνθεση αποκλειστών ή μερικών αγωνιστών των υποδοχέων τους, οι οποίοι χρησιμοποιήθηκαν με επιτυχία σε διάφορα πειραματικά μοντέλα φλεγμονής (8,28).

### **5. Φαρμακολογικές παρεμβάσεις στο επίπεδο των ενδοκυττάρων βιοχημικών οδών**

Οι ενδοκυττάρειες βιοχημικές οδοί που ξεκινούν από τη διέγερση των υποδοχέων των κυττάρων της φλεγμονής και καταλήγουν στην ενεργοποίηση των μεταγραφικών παραγόντων αποτελούν σήμερα πεδίο φαρμακολογικής έρευνας η οποία θα αναδείξει μοριακούς στόχους για εκλεκτικές φαρμακολογικές παρεμβάσεις. Ο στόχος είναι η βελτίωση ή η διόρθωση των ανοσιακών ελλειμμάτων ή των εκτροπών της ανοσιακής απόκρισης ιδιαίτερα στις περιπτώσεις της αυτοανοσίας και της χρόνιας φλεγμονής.

Η κυκλοσπορίνη είναι ένα λιπόφιλο εντεκαμελές κυκλικό πεπτιδίο που δρα ανασταλτικά στην εξαρτώμενη από τα λεμφοκύτταρα παραγωγή κυτταροκινών ως απάντηση σε αντιγονικά ερεθίσματα. Η διέγερση των υποδοχέων TCR (T-Cell Receptor) οδηγεί μέσα από πολύπλοκους μηχανισμούς στην αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$ . Ως γνωστόν, οι υποδοχείς TCR ευρίσκονται στην επιφάνεια των T-λεμφοκυττάρων και ενεργοποιούνται από τα πεπτιδικά ράκη του ξένου αντιγόνου που μεταφέρουν τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα. Τα  $Ca^{2+}$  ενεργοποιούν με τη σειρά τους μια σερίνο-θρεονινοφωσφατάση, κομβικό σημείο για τη σύνθεση των κυτταροκινών. Η κυκλοσπορίνη ενώνεται στο κυτταρόπλασμα με μια ανοσοφυλίνη,



**Εικόνα 3.14: Μηχανισμός κατασταλτικής δράσης της κυκλοσπορίνης στα T λεμφοκύτταρα.**

Η διέγερση των T λεμφοκυττάρων μέσω του αντιγονικού υποδοχέα TCR συνεπάγεται τη φωσφορύλωση της αλυσίδας CD3ζ του συμπλέγματος TCR-CD3. Η φωσφορυλιωμένη CD3ζ συνδέεται στη συνέχεια και ενεργοποιεί την τυροσινική-κινάση ZAP-70. Στη συνέχεια διεγείρεται η φωσφολιπάση C-γ1 (PLC-γ1). Η ενζυμική δράση της PLC-γ1 οδηγεί στο σχηματισμό της τριφωσφορικής ινοσιτόλης που προάγει την αύξηση του ενδοκυττάρου Ca<sup>2+</sup> και της διακυλγλυκερόλης (DAG) που ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση C (PKC). Η αύξηση του ενδοκυττάρου Ca<sup>2+</sup> ενεργοποιεί την καλσινευρίνη που εξαρτάται από την καλμοδουλίνη. Η καλσινευρίνη τροποποιεί την προσχηματισμένη κυτταροπλασματική υπομονάδα του μεταγραφικού παράγοντα NF-AT, ο οποίος στη συνέχεια ενεργοποιείται και μεταβαίνει στον πυρήνα. Επίσης η PKC διεγείρει την κινάση JNK και κινητοποιεί τα Fos και Jun που σχηματίζουν τον μεταγραφικό παράγοντα AP-1. Η κυκλοσπορίνη συνδέεται με την κυκλοφυλλίνη και δρα ανασταλτικά στην καλσινευρίνη. Με το μηχανισμό αυτό αναστέλλεται η διέγερση και μεταγραφή του γονιδίου που κωδικοποιεί την ιντερλευκίνη-2 (IL-2)

Page C. et al. *Integrated Pharmacology-Ελληνική έκδοση Ιατρικές Εκδόσεις Π. Πασχαλίδη, Αθήνα (1997)*

την κυκλοφυλλίνη, και σχηματίζει με αυτήν ένα ετεροδιμερές σύμπλοκο το οποίο εμποδίζει την καλσινευρίνη να δράσει. Η τελευταία είναι απαραίτητη για να ενεργοποιηθεί η ασβεστιοεξαρτώμενη σερίνο-θρεονινο φωσφατάση η οποία αποφωσφορυλιώνει και καθιστά ενεργό τον παράγοντα NFAT, ο οποίος με τη σειρά του και με τη μορφή αυτή εισέρχεται στον πυρήνα και συμμετέχει ως υπομονάδα στο σύμπλοκο που θα δράσει ως παράγοντας μεταγραφής που κωδικοποιεί την IL-2 και τον υποδοχέα της. Με τον ίδιο μηχανισμό αναστέλλεται και η σύνθεση της INF $\gamma$ .

Η ίδια ουσία αναστέλλει τη δραστηριότητα των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων, μεταβάλλει τη λειτουργία των Β-λεμφοκυττάρων αναστέλλοντας τη σύνθεση των ενεργοποιητικών παραγόντων, παρεμβαίνει στην προσκόλληση των λευκοκυττάρων στο φλεβικό ενδοθήλιο και πιθανόν δρα ανασταλτικά στη διήθηση των πολυμορφοπυρήνων. Η τελευταία δράση οφείλεται πιθανόν στην ανασταλτική δράση του φαρμάκου αυτού στην κυκλοφυλλίνη η οποία απελευθερώνεται επίσης από τα μακροφάγα και δρα ως χημειοτακτικός παράγοντας. Επίσης, η κυκλοσπορίνη αυξάνει την έκφραση του TGF- $\beta$  ο οποίος δρα ανασταλτικά στον πολλαπλασιασμό των Τ-κυττάρων που διεγείρεται από την IL-2. Η ουσία αυτή χορηγείται ως ανοσοκατασταλτική τόσο στις μεταμοσχεύσεις όσο και στις διάφορες αυτόνομες παθήσεις, όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα και η ψωρίαση, σε διαφοροποιημένη δοσολογία (18,26,30).

Το τακρολίμους ή FK506 είναι ένα μακρολίδιο αντιβιοτικό το οποίο δρα με παρόμοιο μηχανισμό στην ενεργοποίηση και σύνθεση των κυτταροκινών από τα λεμφοκύτταρα. Το φάρμακο αυτό σχηματίζει σύμπλοκο με την κυτταροπλασματική ανοσοφυλίνη, πρωτεΐνη την οποία ενεργοποιεί ο υποδοχέας της IL-2. Το τακρολίμους συνδέεται επίσης με μία ανοσοφυλίνη, μια πρωτεΐνη των 12 kDa που ονομάζεται FKBP (FK506 Binding Protein) και το σύμπλοκο αυτό δρα επίσης ανασταλτικά στην καλσινευρίνη και στα πρώτα ασβεστιοεξαρτώμενα βήματα ενεργοποίησης των Τ-κυττάρων (26,30).

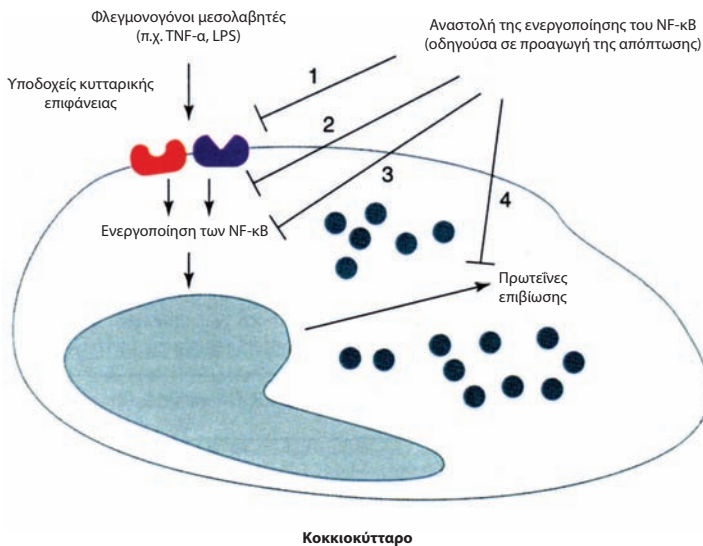
Η ραπαμυσίνη ή Sirolimus είναι επίσης ένα μακρολίδιο αντιβιοτικό που αναστέλλει ένα μεθύτερο στάδιο του μηχανισμού ενεργοποίησης των Τ-κυττάρων. Δρα ανασταλτικά στην πρωτεΐνη FKBP, πλην όμως το σχηματιζόμενο σύμπλοκο πρωτεΐνης-φαρμάκου δεν συνδέεται με την καλσινευρίνη αλλά με μια άλλη πρωτεΐνη που ονομάζεται RAFT1 (Rapamycin and FKBP-12 target-1) ή mTOR (mammalian Target Of Rapamycin). Το σχηματιζόμενο σύμπλοκο δρα ανασταλτικά σε μία κινάση που ενεργοποιείται από τη βιοχημική οδό του υποδοχέα της IL-2. Η κινάση αυτή, όταν είναι ελεύθερη, φωσφορυλιώνει την πρωτεΐνη 4E-BP1 (Protein Translation Regulator) και έχει διεγερτικό ρόλο στον κύκλο του κλωνοποιημένου πολλαπλασιασμού των Τ-κυττάρων. Το φάρμακο αυτό χρησιμοποιείται σήμερα για την επάλειψη των

stents που χρησιμοποιούνται στις αγγειοπλαστικές επεμβάσεις, ώστε να αποτραπεί η ανάπτυξη φλεγμονής και επαναστένωσης του αγγείου (26,30).

### 6. Φαρμακολογικές παρεμβάσεις στο επίπεδο της γονιδιακής μεταγραφής

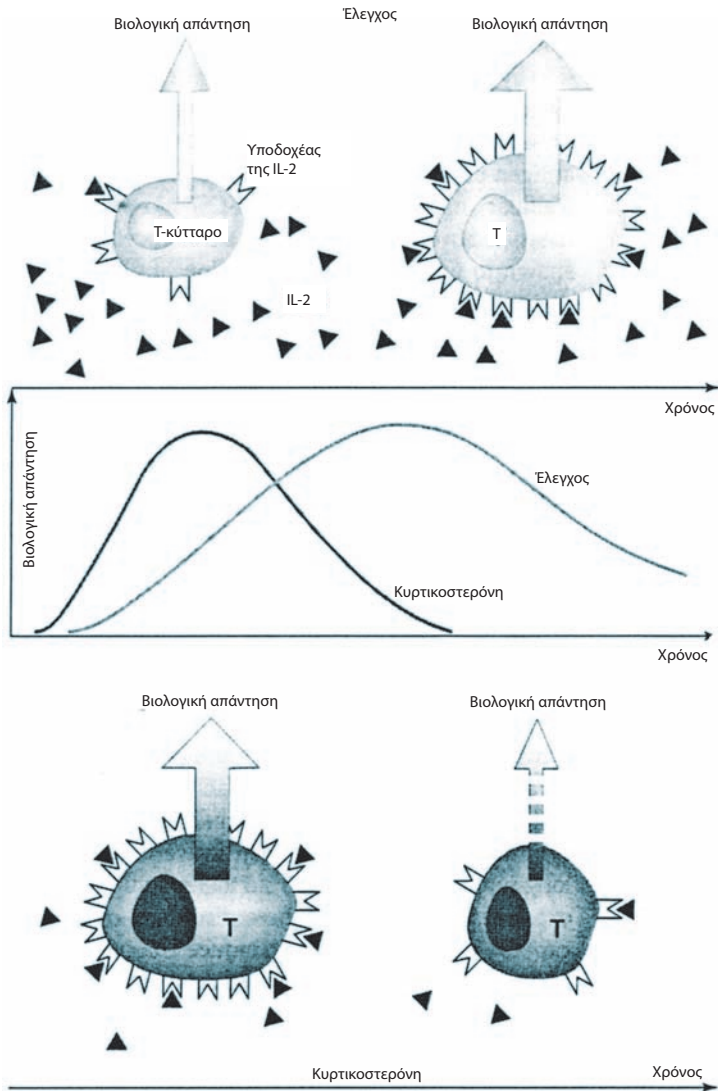
Η εκλεκτική φαρμακολογική παρέμβαση στους παράγοντες αυτούς θα μπορέσει να θέσει υπό έλεγχο την εξέλιξη της ανοσιακής απόκρισης και κατ'επέκταση της φλεγμονής.

Η λεπτομερής διαλεύκανση του δικτύου των βιοχημικών σημάτων που οδηγούν στην ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NF-κΒ θα αποβεί ιδιαίτερα σημαντική για την ανάπτυξη φαρμακολογικών αναστολέων που εκλεκτικά θα εμποδίζουν την ενεργοποίησή του. Πιστεύεται ότι ανα-



**Εικόνα 3.15: Ο ρόλος του μεταγραφικού παράγοντα NF-κΒ στην αναστολή της απόπτωσης των κοκκιωδών λευκοκυττάρων. Φαρμακολογικοί στόχοι.** Πολλοί φλεγμονογόνοι μεσολαβητές ενεργοποιούν τον παράγοντα NF-κΒ, ο οποίος με τη σειρά του προάγει την έκφραση των μεσολαβητών αυτών. Στα λευκοκύτταρα της κοκκιώδους σειράς, ο παράγοντας NF-κΒ φαίνεται να προάγει την έκφραση ενός παράγοντα επιβίωσης ο οποίος προστατεύει τα λευκοκύτταρα από την αποπτωτική δράση του TNF-α (Tumor Necrosis Factor-α:νεκρωτικός των όγκων παράγοντας - α). Διάφοροι αναστολείς του παράγοντα NF-κΒ μπορούν να προάγουν την απόπτωση των ουδετερόφιλων και των ηωσινόφιλων λευκοκυττάρων. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με τον αποκλεισμό των υποδοχέων της κυτταρικής επιφάνειας όπου δρουν οι φλεγμονογόνοι μεσολαβητές, με την αναστολή των ενδοκυττάρων βιοχημικών οδών σήματος και με την παρεμβολή στο επίπεδο της μεταγραφής, όπως η σύνδεση με το DNA, και της σύνθεσης ή του ανταγωνισμού των ενεργειών των παραγόντων επιβίωσης.

*Trends Pharmacol. Sci. 20:503-509 (1999)*



**Εικόνα 3.16:** Πειραματικό μοντέλο το οποίο αναπαριστά την ευνοϊκή δράση των γλυκοκορτικοειδών στην πορεία της βιολογικής απάντησης των Τ-λεμφοκυττάρων των οποίων ο πολλαπλασιασμός εξαρτάται από την ιντερλευκίνη-2. Τα Τ-λεμφοκύτταρα, όταν διεγείρονται, αφενός παράγουν και απελευθερώνουν την ιντερλευκίνη-2 (IL-2), αφετέρου εκφράζουν παροδικά στην επιφάνεια τους υποδοχείς για την κυτταροκίνη αυτή. Τα γλυκοκορτικοειδή προάγουν την πορεία της βιολογικής απάντησης από αυτά αυξάνοντας τον αριθμό των υποδοχέων της IL-2 στην κυτταρική τους μεμβράνη. Υπό την επίδραση της κορτιζόνης, ο απαντητικός μηχανισμός των Τ-λεμφοκυττάρων περιορίζεται σε διάκριση χρόνου, αυξάνει όμως σε ένταση αποτελέσματος. Είναι γνωστό ότι η οξεία βιολογική απάντηση είναι ιδιαίτερα σημαντική στο να περιορίζεται η φλεγμονή τόσο τοπικά όσο και συστηματικά.

*Trends Pharmacol. Sci.* 19:317-321 (1998)



στολείς αυτού του είδους θα έχουν ισχυρή αντιφλεγμονώδη ή και αντικαρκινική δράση (31).

Σήμερα είναι γνωστό ότι διάφορα γνωστά αντιφλεγμονώδη φάρμακα δρουν ανασταλτικά στον NF-κΒ μεταγραφικό παράγοντα. Εκείνο όμως το οποίο επιζητείται είναι η εκλεκτική και ελεγχόμενη φαρμακολογική παρέμβαση (15).

Η ασπιρίνη και η σουλινδάκη, και τα δύο αναστολείς της COX, προστατεύουν την ΙκΒ στην οποία έχει γίνει ήδη αναφορά, αναστέλλοντας τη δράση της κινάσης που την απενεργοποιεί. Με το μηχανισμό αυτό, η ΙκΒ κρατά ανενεργό τον NF-κΒ παράγοντα. Η σανγκουϊνάρίνη, παράγωγο της βενζοφαινανδρίνης, εμποδίζει την ενεργοποίηση του NF-κΒ στο επίπεδο της φωσφορυλίωσης της ΙκΒ. Όλα αυτά δίδουν την ελπίδα για τη σύνθεση εκλεκτικών αναστολέων (15).

#### α. Ο ρόλος των γλυκοκορτικοειδών

Ο ανασταλτικός ρόλος των συνθετικών γλυκοκορτικοειδών ορμονών στην αντιμετώπιση της φλεγμονής, των αυτοανοσιακών παθήσεων και των απορρίψεων μοσχευμάτων είναι γνωστός. Οι ενέργειες αυτές οφείλονται



**Εικόνα. 3.17: Κατασταλτικές δράσεις των γλυκοκορτικοειδών επί ανοσιακών και φλεγμονωδών αποκρίσεων.** Τα γλυκοκορτικοειδή δρουν κατασταλτικά σε λειτουργίες διαφόρων κυττάρων της φλεγμονής.

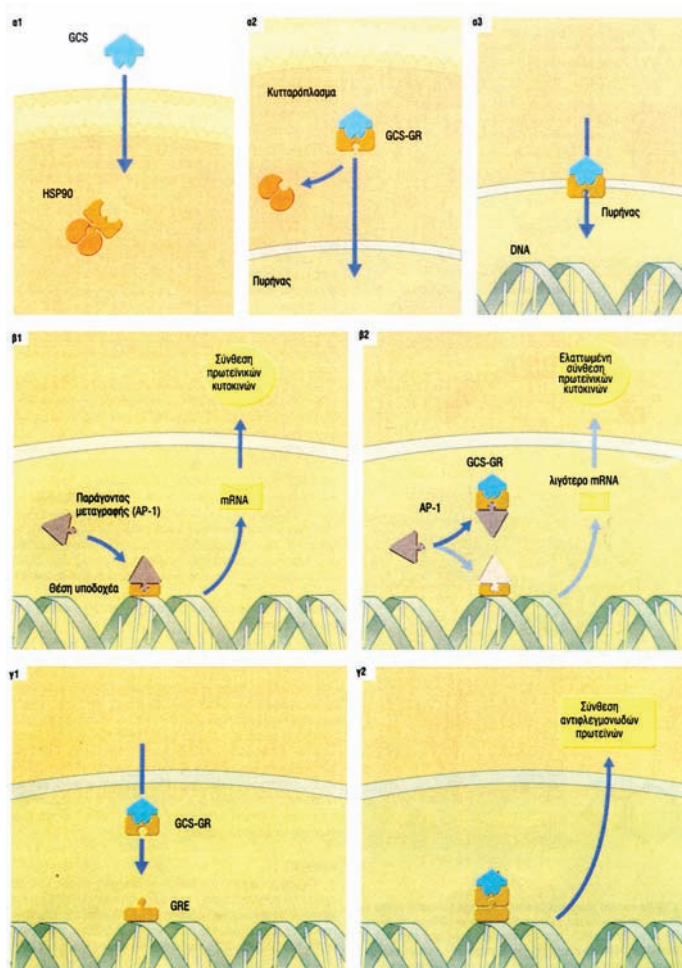
Page C. et al. *Integrated Pharmacology* 1997. Ελληνική έκδοση, Ιατρικές Εκδόσεις Π. Πασχαλίδη, Αθήνα (1997)

στην ανασταλτική τους δράση, στη σύνθεση των κυτταροκινών οι οποίες μεθοδεύουν στη φλεγμονή και την ανοσιακή απόκριση. Τα κορτικοστεροειδή αναστέλλουν επίσης τη δράση του μεταγραφικού παράγοντα NF-κΒ αναβαθμίζοντας την έκφραση της IκΒ πρωτεΐνης και αποκαθιστούν το αδρανές σύμπλοκο NF-κΒ και IκΒ.

Πράγματι, τα γλυκοκορτικοειδή δρουν ανασταλτικά στη σύνθεση και απελευθέρωση ενός μεγάλου αριθμού κυτταροκινών όπως η IL-1α, η IL-1β, η IL-2, η IL-3, η IL-5, η IL-6, η IL-8, η IL-12, η IFN-γ ο TNF-α και ο GM-CSF. Οι ανασταλτικές αυτές ενέργειες ασκούνται στο επίπεδο της μεταγραφής, της απελευθέρωσης και της σταθερότητας του mRNA, καθώς επίσης και στο επίπεδο της μετάφρασης (32).

Τα γλυκοκορτικοειδή περνούν την κυτταρική μεμβράνη και ενώνονται με τον υποδοχέα τους στο κυτταρόπλασμα. Με την ένωση του γλυκοκορτικοειδούς με τον υποδοχέα απομακρύνονται από αυτόν τα δύο μόρια μιας πρωτεΐνης θερμικής καταπληξίας (Hsp90: Heat shock protein 90), η οποία δρα ανασταλτικά στην ενεργοποίησή του. Το σχηματιζόμενο σύμπλοκο υποδοχέα-γλυκοκορτικοειδούς μεταναστεύει στον πυρήνα και συνδέεται με τα στοιχεία ανταπόκρισης GREs (Glycocorticoid Response Elements) που υπάρχουν στα αντίστοιχα γονίδια. Με το μηχανισμό αυτό προάγεται η μεταγραφή των αντίστοιχων mRNAs και η σύνθεση της λιποκορτίνης 1 ή ανεξίνης 1, ουσίας η οποία δρα ανασταλτικά στη PLA<sub>2</sub> της οποίας ο ρόλος στη σύνθεση φλεγμονωδών παραγόντων είναι γνωστός. Η ανεξίνη 1 προάγει επίσης την αποκόλληση των έμμορφων στοιχείων του αίματος από το ενδοθήλιο δρώντας ενάντια στο χημειοτακτικό ρεύμα. Παράλληλα, το ίδιο σύμπλοκο δεσμεύει τον μεταγραφικό παράγοντα AP-1 και με το μηχανισμό αυτό μειώνεται η σύνθεση προϊόντων της φλεγμονής όπως είναι οι κυτταροκίνες, η COX-2, η PLA<sub>2</sub>, η NOS και άλλων (17).

Εν τούτοις τα γλυκοκορτικοειδή δεν καταστέλλουν τη σύνθεση όλων των κυτταροκινών. Μεταξύ αυτών των οποίων η σύνθεση δεν αναστέλλεται, περιλαμβάνονται ο παράγοντας M-CSF και ο TGF-β, ενώ αλληλοσυγκρουόμενες είναι οι απόψεις για το τι συμβαίνει με την IL-4. Παραδόξως, τα γλυκοκορτικοειδή προάγουν σε πολλά κύτταρα την έκφραση των υποδοχέων πολλών κυτταροκινών όπως των υποδοχέων για την IL-1, την IL-2, την IL-4, την IFNγ, τον GM-CSF, τον CSF1 και τον TNF-τύπου I. Επίσης αυξάνουν και έναν κοινό ενδοκυττάριο μεταβιβαστή του σήματος πολλών υποδοχέων των κυτταροκινών, τη γλυκοπρωτεΐνη 130 (gp130). Φαίνεται, λοιπόν, ότι τα γλυκοκορτικοειδή, ενώ αναστέλλουν τη σύνθεση πολλών κυτταροκινών, παράλληλα επιτείνουν την ευαισθησία πολλών κυττάρων για τις κυκλοφορούσες κυτταροκίνες μέχρι του σημείου που οι συγκεντρώσεις των τελευταίων γίνονται αυτοπεριοριστικές. Με τον τρόπο αυτό, τα γλυκοκορτικοειδή βελτιώνουν τη συγκεκριμένη βιολογική απάντηση (32).



**Εικόνα 3.18: Ενέργειες των γλυκοκορτικοειδών (GCs) σε επίπεδο μεταγραφής του DNA.** **α1.** Τα GCs διέρχονται την κυτταρική μεμβράνη και συνδέονται με υποδοχείς (GR: Glycocorticoid Receptor) στο κυτταρόπλασμα. **α2.** Η σύνδεση αυτή αποδεσμεύει τους υποδοχείς αυτούς από την ανασταλτική δράση της πρωτεΐνης θερμικής καταπληξίας 90 (HSP90: Heat Shock Protein 90). **α3.** Το σύμπλοκο GCs – GR εγκαταλείπει το κυτταρόπλασμα και οδεύει προς τον πυρήνα.

Τα GCs εξασκούν την αντιφλεγμονώδη δράση τους με δύο τουλάχιστον μηχανισμούς σε επίπεδο DNA. **β1.** Ο παράγοντας μεταγραφής AP-1 (Activated Protein-1) διεγείρει το αντίστοιχο γονίδιο που κωδικοποιεί μια κυτταροκίνη και προάγει τη μεταγραφή του mRNA και κατ' επέκταση τη σύνθεση της πρωτεΐνης αυτής. **β2.** Το σύμπλοκο GCs – GR καταλαμβάνει τον υποδοχέα της AP-1 και εμποδίζει τη διέγερση και μεταγραφή του αντίστοιχου γονιδίου. **γ1.** Το σύμπλοκο GCs – GR συνδέεται με το αντίστοιχο σημείο ανταπόκρισης CRE στο γονιδιακό DNA. **γ2.** Η σύνδεση αυτή προάγει τη μεταγραφή και σύνθεση αντιφλεγμονωδών πρωτεϊνών.

Page C. et al. *Integrated Pharmacology*. Ελληνική έκδοση, Ιατρικές Εκδόσεις Π. Πασχαλίδου, Αθήνα (1997)

Οι μηχανισμοί αυτοί τείνουν να εξηγήσουν τη θεραπευτική ανεπάρκεια των γλυκοκορτικοειδών στις περιπτώσεις της σηψαιμίας και της σηψαιμικής καταπληξίας. Η ανεπάρκεια αυτή φαίνεται να οφείλεται στο γεγονός ότι η χορήγηση των γλυκοκορτικοειδών γίνεται όταν αρχίζουν ήδη να κυκλοφορούν στο αίμα των ασθενών υψηλές συγκεντρώσεις προφλεγμονωδών κυτταροκινών (32).

Τελευταία διαπιστώνεται ότι η αντιφλεγμονώδης δράση των γλυκοκορτικοειδών δεν εξαρτάται μόνο από τη διέγερση του DNA από το σύμπλοκο υποδοχέα-γλυκοκορτικοειδούς αλλά και από μια σειρά αλληλεπιδράσεων πρωτεϊνών προς πρωτεΐνες που ξεκινά με την ένωση των γλυκοκορτικοειδών με τον ενδοκυττάριο υποδοχέα τους και καταλήγει σε αρνητικά μηνύματα για τη μεταγραφή πρωτεϊνών της φλεγμονής. Πιστεύεται ότι η σύνθεση προσδετών των υποδοχέων αυτών που θα εμποδίζουν τη διέγερση του DNA από το σύμπλοκο που θα σχηματίζουν με τον υποδοχέα θα βοηθήσει την ανάπτυξη αντιφλεγμονωδών ενεργειών χωρίς τις ανεπιθύμητες ενέργειες που παρατηρούνται κατά τη μακρόχρονη χρήση των γλυκοκορτικοειδών σε χρόνιες φλεγμονές. Παρόμοιες ουσίες δοκιμάζονται ήδη σε προκλινικά στάδια. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η διαπίστωση των τελευταίων χρόνων ότι τα γλυκοκορτικοειδή διαθέτουν και υποδοχείς στην κυτταρική μεμβράνη των κυττάρων στόχων και ότι οι ενέργειες που εκπορεύονται από τους υποδοχείς αυτούς δεν είναι απόλυτα ξεκαθαρισμένες (33).

### β. Αζαθειοπρίμη

Η αζαθειοπρίμη, ιμιδαζολυλοπαράγωγο της 6-μερκαπτοπουρίνης, είναι ένα φάρμακο που δρα ως αντιμεταβολίτης. Στον οργανισμό μετατρέπεται αρχικά σε 6-μερκαπτοπουρίνη και στη συνέχεια σε άλλα μεταβολικά προϊόντα. Το τελικό προϊόν του μεταβολισμού της είναι η 6-θειο-τριφωσφορική γουανοσίνη η οποία ενσωματώνεται στο DNA και εμποδίζει τη γονιδιακή μεταγραφή. Μεταξύ άλλων αναστέλλει και τον πολλαπλασιασμό των λεμφοκυττάρων. Χρησιμοποιήθηκε από τη δεκαετία του 1960 ως ανοσοκατασταλτικό, ενώ σε μικρότερη δοσολογία χρησιμοποιείται σε αυτοάνοσες παθήσεις όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα (26).

### γ. Μυκοφαινολικό οξύ

Το μυκοφαινολικό οξύ σχηματίζεται από την υδρόλυση του εστέρα του, δηλαδή του 2-μορφολινοαιθυλοεστέρα, ο οποίος χορηγείται ως προφάρμακο. Δρα ως εκλεκτικός αναστολέας της ισοινο-μονοφωσφορικής δεϋδρογενάσης (IMPDH: Iosine Monophosphate Dehydrogenase). Το ένζυμο αυτό είναι απαραίτητο για τη σύνθεση των γουανινονουκλεοτιδίων. Τα T και B λεμφοκύτταρα εξαρτώνται ιδιαίτερα από αυτή τη βιοχημική οδό για να πολλαπλα-

σιασθούν, σε αντίθεση με άλλα κύτταρα που μπορούν να χρησιμοποιήσουν και άλλες οδούς. Η ίδια ουσία αναστέλλει και τις λειτουργίες των κυττάρων αυτών όπως είναι η σύνθεση των αντιγόνων, η προσκόλληση και η μετανάστευση (26).

### **7. Στο επίπεδο της γονιδιακής θεραπείας**

Η γονιδιακή θεραπεία αποτελεί το μέλλον της θεραπευτικής. Η πρόοδος η οποία γίνεται είναι μεγάλη και πιστεύεται ότι το νέο αυτό είδος θεραπείας θα γίνει αποτελεσματικό και ασφαλές για πολλές κληρονομικές αλλά και επίκτητες ασθένειες. Η ενίσχυση του ανοσιακού συστήματος που είναι άρρηκτα συνδεδεμένο με τη φλεγμονή αποτελεί έναν από τους κύριους στόχους για παρεμβάσεις. Μελέτες με γονίδια κυτταροκινών και γονίδια αντιγόνων πραγματοποιούνται τόσο πειραματικά όσο και προκλινικά. Το μεγαλύτερο πρόβλημα δεν είναι τόσο η παρασκευή ενός συγκεκριμένου γονιδίου όσο ο σωστός τρόπος μεταφοράς του στον άνθρωπο.

Ειδικότερα, εμβόλια DNA έχουν χρησιμοποιηθεί σε προκλινικές και κλινικές δοκιμασίες για τη θεραπεία πολλών λοιμώξεων οι οποίες οφείλονται σε ιούς και μικρόβια παράσιτα, καθώς επίσης και σε ορισμένες κακοήθειες και χρόνιες αλλεργικές καταστάσεις. Η χρησιμοποιούμενη μέθοδος συνίσταται σε ενοφθαλμισμό στο δέρμα ή στους μυς ενός πλασμιδίου το οποίο φέρει ένα γονίδιο που κωδικοποιεί μια αντιγονική πρωτεΐνη. Ακολουθεί η μεταγραφή και η μετάφραση του γονιδίου στα κύτταρα του σώματος και το παραγόμενο πρωτεϊνικό αντιγόνο αναπτύσσει μια πολυπρόσωπη ανοσιακή απόκριση που τη χαρακτηρίζουν τόσο χυμικές όσο και κυτταρικές αντιδράσεις. Η πρόκληση αυτοανοσιακών αντιδράσεων, η ελαττωμένη χυμική ανοσιακή απόκριση και ο κίνδυνος εισαγόμενων μεταλλάξεων δημιουργούν σκεπτικισμό και αποτελούν προς το παρόν περιοριστικά προβλήματα (34).

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ**

1. Mann D.: Cytokines as mediators of disease progression in the failing heart. In: Hosenpud J. and Greenberg B.(eds) " Congestive heart failure. Lippicott Williams and Wilkins, Philadelphia (2000)
2. Κόκκας Β.: Θέματα Μοριακής Φαρμακολογίας. University Studio Press, Θεσσαλονίκη (1999)
3. Henderson B., Blake S.: Therapeutic potential of cytokine manipulation. *Trends Pharmacol. Sci.* 13: 145-152, (1992)
4. Haynes B., Fauci A.: Introduction to the immune system. In Braunwald E. et al (eds) " Harrison's. Principles of internal medicine". McGraw-Hill Med. Publ. Div., N.York, p1805 (2001)
5. Mann D.: Cytokines as mediators of disease progression in the failing heart. In: Hosenpud J. and Greenberg B.(eds) " Congestive heart failure. Lippicott Williams and Wilkins, Philadelphia (2000)
6. Dinarello C.: Biological basis for interleukin-1 in disease. *Blood* 87: 2095-2147 (1996)
7. Baggiolini M., Loetscher P., Thelen M.: Theodor Kocher Institute, University of Bern, Switzerland. *Trends pharmacol. Sci.* 21: attached paper, (2000)
8. Wells T., Power Ch., Proudfoot A.: Definition, function and pathophysiological significance of chemokine receptors. *Trends Pharmacol.Sci.* 22:146-152 (2001)
9. Murphy P.: Chemokine receptors. glucocorticoids and pathological significance. National Institutes of Health, Bethesda. MD USA, *Trends Pharmacol. Sci.* 17: attached paper, (1996)
10. Cho M.L., Kim W.U., Min S.Y.: Cyclosporine differentially regulates interleukin-10, interleukin-15 and tumor necrosis factor  $\alpha$  production by rheumatoid synoviocytes. *Arthritis Rheum.* 46:42-51 (2002)
11. Souich P.: Inside leaf . *Trends Pharmacol. Sci.* 20: (2000)
12. Lee S.L., Lee S.: Toll like receptors and inflammation in the CNS. In Current drugs targets-inflammation and allergy. Vol. No 2: 181-191, Internet-Medline (2002)
13. Boehncke W., Schon M.: Interfering with leukocyte rolling. A promising therapeutic approach in inflammatory skin disorders. *Trends Pharmacol. Sci.* 24:49-52 (2003)
14. Θεοδώρου Ι.: NF- $\kappa$ B οδός σηματοδότησης και T-κατευθυνόμενες θεραπείες. *Πρακτικά Επιστ. Ημερίδας " Θεραπευτικές στρατηγικές που στοχεύουν στο T-λεμφοκύτταρο.* Θεσσαλονίκη 1-11-03, σελ. 20 (2003)
15. Emery J., Ohlstein E., Jaye M.: Therapeutic modulation of transcription factor activity. *Trends Pharmacol.Sci.* 22:233-240 (2001)

16. Eder J.: Tumour necrosis factor  $\alpha$  and interleukin 1 signalling. *Trends Pharmacol.Sci.* 18:319-322 (1997)
17. Schimmer B., Parker K.: Adrenocorticotrophic hormone. In: Hardman J. et al (eds). "Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics". P. 1649, McGraw-Hill Med. Publ. Div., N.York (1999)
18. Κουντουράς Ι.: Η κυκλοσπορίνη και φλεγμονώδη νοσήματα του εντέρου. *Πρακτικά Επιστ. Ημερίδας "Θεραπευτικές στρατηγικές που στοχεύουν στο T-λεμφοκύτταρο.* Θεσσαλονίκη 1-11-03, σελ. 12-17 (2003)
19. Vandenbroeck K., Goris A.: Cytokine gene polymorphisms in multifactorial diseases: gateways to novel targets for immunotherapy. *Trends Pharmacol.Sci.* 24:284-289 (2003)
20. Saba R., Guler M., Inan D.: The effect of granulocyte-stimulating factor in the treatment of Escherichia coli peritonitis with or without ceftriaxone in a nonneutropenic rat model. *Surg. Today* 33: 504-508 (2003)
21. Hubel K., Dale D., Liles W.: Therapeutic use of cytokines to modulate phagocyte function for the treatment of infectious diseases. Current status of granulocyte colony –stimulating factor, granulocyte-macrophage colony –stimulating factor, macrophage –stimulating factor and interferon-gamma. *J. Infect. Dis.* 185:1490-1501 (2002)
22. Wunderink R., Leeper K., Schein R., Nelson S.: Filigastin in patients with pneumonia and severe sepsis or septic shock. *Chest* 119:523-529 (2001)
23. Arslan E., Yavuz M., Dalay C.: The relationship between tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  and survival following granulocyte-colony stimulating factor ( G-CSF) administration in burn sepsis. *Burns* 26: 521-524 (2000)
24. Dibbert B., Weber M., Nikolaizik W.: Cytokine –mediated Bax deficiency and consequent delayed neutrophil apoptosis. A general mechanism to accumulate effector cells in inflammation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96: 13330-13335 (1999)
25. Hillman R.: Hematopoietic agents. In: Hardman J. and Limbird L (eds) "Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics". McGraw-Hill Med. Publ. Co., New York, pp1487-1517 (2001)
26. Krensky A., Strom T., Bluestone J.: Immunomodulators. In: Hardman J. and Limbird L (eds) "Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics". McGraw-Hill Med. Publ. Co., New York, pp 1463-1487 (2001)
27. Berkers C., Ovaas H.: Immunotherapeutic potential for ceramide-based activators of iNKT cells. *Trends Pharmacol. Sci.* 26:352-257 (2005)
28. Devalaraja M., Richmond A.: Multiple chemotactic factors. Fine control or redundancy? *Trends Pharmacol. Sci.* 20: 151-157 (1999)

29. Papageorgiou A., Wikman L.: Is JAK3 a new drug for immunomodulation-based therapies? *Trends Pharmacol. Sci.* 25:558-562 (2004)
30. Snyder S., Sabatini D., Lai M., Steiner J.: Neural actions of immunophilin ligands. *Trends Pharmacol. Sci.* 19:21-25 (1998)
31. Chen F., Demers L., Shi X.: Upstream signal transduction of NF-κB activation. In: *Current drugs targets-inflammation and allergy*. Vol. No 2: 137-149 Internet-Medline (2002)
32. Wieggers G., Reul M.: Induction of cytokine receptors by glucocorticoids and pathological significance. *Trends pharmacol. Sci.* 19:317-321 (1998)
33. Buckibinder L., Robinson R.: The glucocorticoid receptor. Molecular mechanisms and new therapeutic opportunities. In: *Current drugs targets-inflammation and allergy*. Vol. No 2: 127-136, Internet-Medline (2002)
34. Lever R.: iNOS in arthritis-inducible or innocent. *Trends Pharmacol. Sci.* 22: 220-221 (2001)



## Αγγειοδραστικοί παράγοντες της φλεγμονής – Δυνατότητες φαρμακολογικών παρεμβάσεων σε μοριακό επίπεδο

Β. Α. Κόκκας, Ε. Γ. Μπασλή και Κ. Α. Παπαδόπουλος  
Εργαστήριο Φαρμακολογίας και Β' Καρδιολογική Κλινική  
Ιατρική Σχολή Α.Π.Θ.

### περίληψη

Ο ιστικός τραυματισμός ακολουθείται από μία σειρά γεγονότων τα οποία συνιστούν τη φλεγμονώδη αντίδραση. Ανάμεσα σε αυτά τα γεγονότα περιλαμβάνονται και οι μεταβολές του εύρους των αγγείων στην τραυματισθείσα περιοχή. Στην αρχή παρατηρείται ένας τοπικός αγγειόσπασμος ο οποίος στοχεύει στον περιορισμό του αιτίου που προκάλεσε την ιστική βλάβη. Ακολουθεί η τοπική αγγειοδιαστολή και η αύξηση της διαπερατότητας του αγγειακού τοιχώματος, οι οποίες αποσκοπούν στο να διευκολύνουν τα κύτταρα και τα μεγαλομόρια που συμμετέχουν στη φλεγμονή να φθάσουν την τραυματισθείσα περιοχή. Στα φαινόμενα αυτά συμμετέχουν πολλές αγγειοδραστικές ουσίες όπως η ισταμίνη, η βραδυκινίνη, οι προσταγλανδίνες, οι λευκοτριένες και το οξείδιο του αζώτου. Οι ουσίες αυτές αποτελούν στόχους φαρμακολογικών παρεμβάσεων που αποσκοπούν στον έλεγχο της φλεγμονώδους αντίδρασης.

### εισαγωγή

Από τη στιγμή που ένας ιστός τραυματισθεί από μικρόβιο, από χημικά μέσα, ή από κάκωση από οιαδήποτε άλλη αιτία, απελευθερώνονται ουσίες οι οποίες με τη σειρά τους προκαλούν το φαινόμενο της φλεγμονής. Οι κυριότερες από τις ουσίες αυτές είναι οι διάφορες κυτταροκίνες και οι διάφορες αγγειοδραστικές ουσίες. Οι τελευταίες ελέγχουν τον τόνο των τριχοειδών στην περιοχή του τραυματισμού και τη διαπερατότητα του ενδοθηλίου (1,2,3).

Αμέσως μετά την τραυματική βλάβη, τα αιμοφόρα αγγεία που αρδεύουν την περιοχή αυτή συσπώνται περιορίζοντας την απώλεια αίματος από την περιοχή, την εξάπλωση και διασπορά του αιτίου της ιστικής βλάβης, εφόσον αυτό είναι παθογόνο αίτιο, ενώ παράλληλα αποδίδονται στο σημείο αυτό όλα τα μοριακά και κυτταρικά στοιχεία τα οποία οργανώνουν την πρώιμη φάση της φλεγμονής.

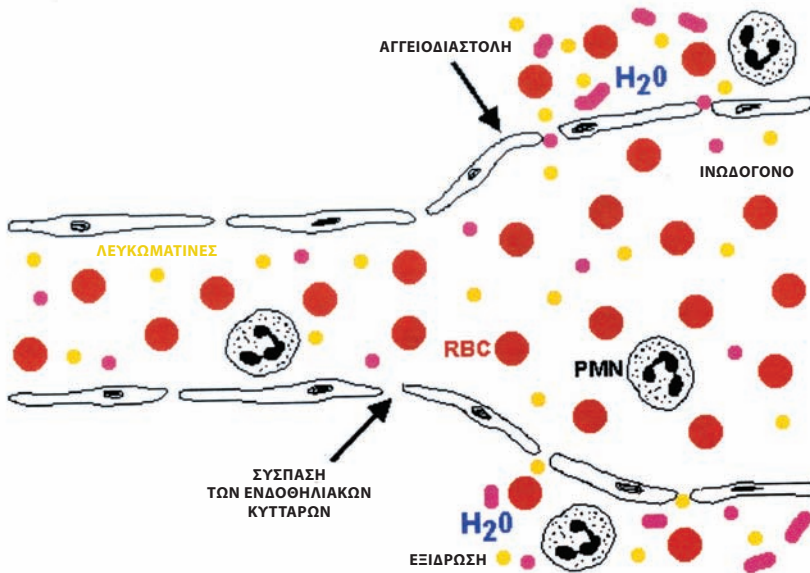
Καθώς οργανώνεται η φλεγμονώδης αντίδραση και η κινητοποίηση κυττάρων από τον πέριξ ιστό με την απελευθέρωση δραστικών παραγόντων, η αγγειοσύσπαση θα δώσει τη θέση της στην αγγειοδιαστολή. Η αγγειοδιαστολή αυτή οφείλεται στην εμφάνιση ενός πολύπλοκου συνδυασμού ενδογενών αμινών όπως η ισταμίνη, η βραδυκινίνη, η σεροτονίνη, καθώς επίσης και ενός καταρράκτη από προσταγλανδίνες και λευκοτριένες οι οποίες είναι προϊόντα της απελευθέρωσης και διέγερσης του αραχιδονικού οξέος. Από τις ουσίες αυτές άλλες προάγουν την αγγειοδιαστολή, άλλες την αυξημένη διαπερατότητα του ενδοθηλίου, άλλες τη διέγερση των υποδοχέων του πόνου, ενώ πολλές από αυτές συμμετέχουν σε περισσότερες της μίας ενέργειες.

Η αγγειοδιαστολή, και ιδιαίτερα εκείνη στην περιοχή της μικροκυκλοφορίας, είναι υπεύθυνη κλινικά για την εμφάνιση της ερυθρότητας. Με την αγγειοδιαστολή που επιτυγχάνεται διευκολύνεται η ροή του αίματος στην ήδη περιχαρακωμένη από την προηγηθείσα αγγειοσύσπαση περιοχή. Παράλληλα, διευκολύνεται επίσης η είσοδος και η έξοδος των μοριακών και κυτταρικών στοιχείων που θα στρατευτούν στην περιοχή αυτή, καθώς και των προϊόντων τους. Η σύσπαση των ενδοθηλιακών κυττάρων η οποία θα ακολουθήσει και κατ'επέκταση η αύξηση της διαπερατότητας του ενδοθηλίου θα διευκολύνει ακόμη περισσότερο τη διακίνηση των μοριακών και κυτταρικών στοιχείων που θα συρρέουν στην περιοχή της ιστικής βλάβης, καθώς και την έξοδο υγρού προς τον μεσοκυττάριο χώρο τον οποίο δημιουργεί το οίδημα. Συχνά είναι και τα θρομβωτικά φαινόμενα λόγω της παρουσίας αυξημένων ποσοτήτων ινωδογόνου και άλλων πρωτεϊνών οι οποίες περνούν το ενδοθήλιο των αγγείων. Βιολογικός στόχος της αγγειοδιαστολής αυτής είναι η διευκόλυνση της προσέγγισης στην περιοχή όλων των συντελεστών της φλεγμονής η οποία αποσκοπεί στην απομάκρυνση των αιτιών που προξένησαν τη βλάβη και στην αποκατάσταση της τελευταίας.

Κατά την εξέλιξη της φλεγμονής διακρίνονται διάφορες φάσεις οι οποίες συνιστούν και τις διάφορες γραμμές άμυνας του οργανισμού απέναντι στον εισβολέα. Κατά τις φάσεις αυτές οι οποίες συνιστούν και τη φυσική μη εξειδικευμένη ανοσιακή απόκριση απελευθερώνονται, όπως ήδη αναφέρθηκε, μεταξύ των άλλων, και αγγειοδιασταλτικές ουσίες. Οι κυριότεροι παράγοντες οι οποίοι προκαλούν την αγγειοδιαστολή είναι η ισταμίνη, οι προσταγλανδίνες και το οξειδιο του αζώτου. Παράλληλα, πολλές από τις απελευθερούμενες ουσίες συμμετέχουν στους μηχανισμούς εμφάνισης ή αναστολής του πόνου (2,4-8).

Σημαντικές, επίσης, γνώσεις υπάρχουν σήμερα για ένα είδος αυτοδιεγείρομενων υποδοχέων. Πρόκειται για τους υποδοχείς οι οποίοι ενεργοποιούνται από τις πρωτεάσες (PARs: Protease-Activated Receptors), οι οποίοι

φαίνεται ότι διαδραματίζουν ενεργό ρόλο στη διαστολή των τριχοειδών. Οι υποδοχείς αυτοί ανήκουν στην κατηγορία των επταδιαμεμβρικών υποδοχέων οι οποίοι συνδέονται με G-πρωτεΐνη. Η ενεργοποίησή τους εξαρτάται από την πρωτεολυτική δράση ενζύμων, όπως είναι η θρομβίνη, η τρυψίνη και πιθανόν και άλλες σερίνο-πρωτεάσες. Τα ένζυμα αυτά διασπούν κατά μη αντιστρεπτό τρόπο ειδικές θέσεις τις οποίες παρουσιάζει το N-πέρας του εξωκυττάριου τμήματός τους. Το νέο N-πέρας το οποίο δημιουργείται μετά την αποκοπή του παλαιού πέρατος από τα παραπάνω ένζυμα, έρχεται και ενώνεται με τον ίδιο τον υποδοχέα, πιθανόν στο εξωκυττάριο τμήμα της δεύτερης αγκύλης του υποδοχέα αυτού, και τον ενεργοποιεί (9-11).



**Εικόνα 4.1: Μηχανισμοί ανάπτυξης του οιδήματος στην περιοχή της ιστικής βλάβης.** Η ανάπτυξη του οιδήματος υποβοηθείται από τη σύσπαση των ενδοθηλιακών κυττάρων και την αγγειοδιαστολή η οποία είναι πιο έντονη στα μετατριχοειδή φλεβίδια. Οι χημικοί παράγοντες που προκαλούν τη σύσπαση των ενδοθηλιακών κυττάρων είναι η ισταμίνη, οι λευκοτριένες, η βραδυκινίνη, ο ενεργοποιητικός παράγοντας των αιμοπεταλίων (PAF) και τα C3a και C5a κλάσματα από την ενεργοποίηση του συμπληρώματος. Μεταξύ των χημικών παραγόντων που προκαλούν την αγγειοδιαστολή περιλαμβάνονται η ισταμίνη, οι προσταγλαδίνες και το οξείδιο του αζώτου. RBC: ερυθρά αιμοσφαίρια, PMN: πολυμορφοπύρρηνα.

File://A:\Inflammationl.htm - Internet

## ΑΡΧΙΚΟΣ ΑΓΓΕΙΟΣΠΑΣΜΟΣ

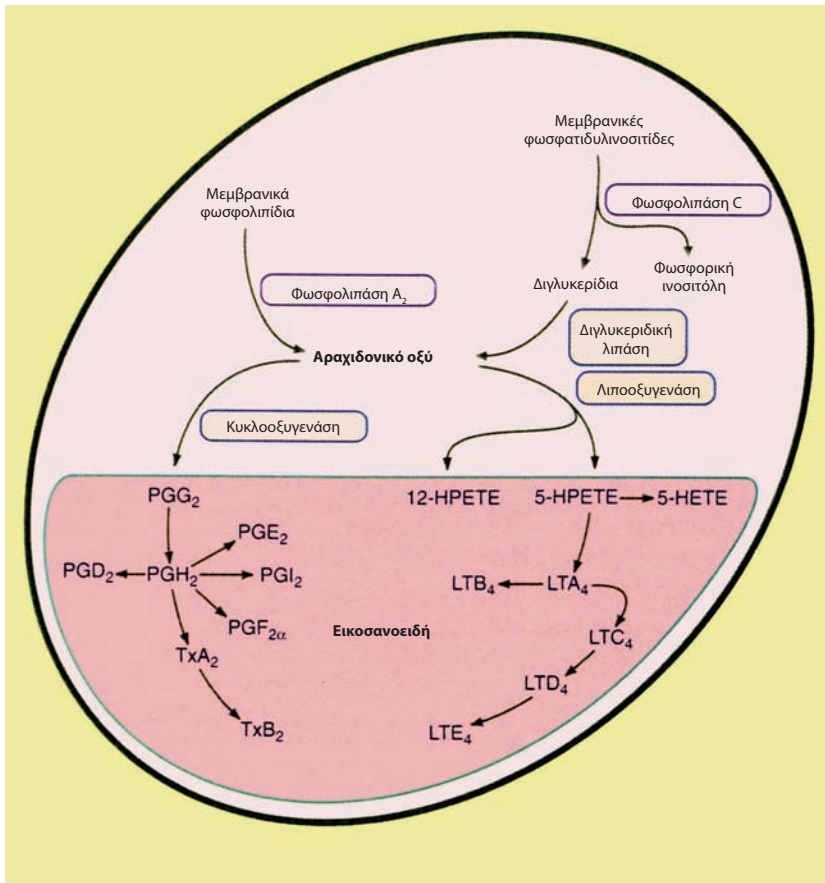
Όπως ήδη αναφέρθηκε, την ιστική βλάβη ακολουθεί σύσπαση των αγγείων της περιοχής η οποία περιορίζει την απώλεια αίματος όπως συμβαίνει επί τραυματισμού και περιχαράκωνει τα αίτια που την προκάλεσαν όπου αυτό συντρέχει, όπως στις περιπτώσεις που τα αίτια είναι λοιμογόνα ή χημικά. Στη μικροκυκλοφορία των ιστών υπεύθυνα για τον αγγειόσπασμο είναι τα αιμοπετάλια και πράττουν αυτό μέσα από την απελευθέρωση της θρομβοξάνης (TXA<sub>2</sub>). Αγγειοσυσπαστική δράση ασκεί και η σεροτονίνη, αν και εδώ τοπικά υπάρχουν διαφοροποιήσεις. Παράλληλα, όταν ο ιστικός τραυματισμός οφείλεται σε λοιμογόνο παράγοντα, ακολουθεί περιχαράκωση της περιοχής γιατί τα μεσοδιαστήματα των ιστών και τα λεμφοφόρα αγγεία εμφράσσονται από πύσματα ινώδους (4,12).

### Θρομβοξάνη

Η θρομβοξάνη (TXA<sub>2</sub>) συντίθεται κυρίως από τα αιμοπετάλια. Σε μικρότερες ποσότητες συντίθεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η TXA<sub>2</sub> είναι ένα από τα προϊόντα μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος. Στην αρχή το αραχιδονικό οξύ υπό την επίδραση της κυκλοοξυγενάσης (COX: Cyclooxygenase) δίνει τα ασταθή κυκλικά ενδοπεροξειδία PGG<sub>2</sub> και PGH<sub>2</sub>. Στο τελευταίο επιδρά η συνθετάση της θρομβοξάνης και δίνει την TXA<sub>2</sub>, η οποία επίσης καταβολίζεται σε βραχύτατο χρόνο στο αδρανές προϊόν TXB<sub>2</sub> (4,13-16).

Πρόκειται για μία ουσία η οποία προάγει τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων και τον αγγειόσπασμο. Παράλληλα συσπά και τα ενδοθηλιακά κύτταρα και αυτό συμβάλλει στην αύξηση της διαπερατότητας των τριχοειδών κατά την εξέλιξη της φλεγμονής. Τις ενέργειες αυτές τόσο στα αιμοπετάλια όσο και στα ενδοθηλιακά κύτταρα τις προκαλεί αυξάνοντας το ελεύθερο ενδοκυττάριο Ca<sup>2+</sup> (17).

Η TXA<sub>2</sub> δεν είναι ο μόνος παράγοντας της πήξης του αίματος που συμμετέχει στη φλεγμονή. Είναι γνωστό ότι υπάρχει και από άλλους παράγοντες σύνδεση μεταξύ των μηχανισμών της φλεγμονής και των μηχανισμών πήξης του αίματος. Η θρομβίνη, η οποία απελευθερώνεται κατά την ενδοθηλιακή βλάβη, ασκεί τόσο έμμεση, λόγω έκλυσης παραγόντων, όσο και άμεση φλεγμονογόνο δραστηριότητα διεγείροντας τους υποδοχείς PARs οι οποίοι εντοπίζονται και στο ενδοθήλιο. Επίσης, το δίκτυο της ινικής που αναπτύσσεται, όπως ήδη αναφέρθηκε, αφενός περιορίζει την απώλεια αίματος αφεντέρου παγιδεύει διάφορα κύτταρα του αίματος που συμβάλλουν στη φλεγμονή, όπως τα αιμοπετάλια, τα κοκκιώδη κύτταρα, τα μονοκύτταρα και τα λεμφοκύτταρα, και τα περιοριορίζει στο χώρο της ιστικής βλάβης (1,9,10).



**Εικόνα 4.2: Ο ρόλος των λιπιδίων στα κυτταρικά σήματα.** Το αραχιδονικό οξύ αποτελεί φυσιολογικό συστατικό των φωσφολιπιδίων των κυτταρικών μεμβρανών. Απελευθερώνεται από αυτά με τη δράση των φωσφολιπασών A<sub>2</sub> και C. Από το αραχιδονικό οξύ, η οδός της κυκλοοξυγενάσης δίνει ως τελικά προϊόντα τις προσταγλανδίνες PGD<sub>2</sub>, PGF<sub>2α</sub>, PGE<sub>2</sub>, την προστακυκλίνη PGI<sub>2</sub> και τις θρομβοξάνες TXA<sub>2</sub> και TXB<sub>2</sub>. Επίσης από το αραχιδονικό οξύ, η οδός της λιποοξυγενάσης δίνει τελικά προϊόντα τις λευκοτριένες LTB<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, και LTE<sub>4</sub>.

*Sigma: Signal Transduction and Neuroscience (1999)*

### 5-υδροξυτρυπαμίνη

Η 5-υδροξυτρυπαμίνη ή σεροτονίνη (5-HT) είναι μία ενδογενής αμίνη η οποία συντίθεται από την τρυπτοφάνη και, μεταξύ άλλων, περιέχεται στα αιμοπετάλια. Η 5-HT είναι από τις πρώτες ουσίες που απελευθερώνονται τοπικά μετά την ιστική βλάβη. Η ουσία αυτή ασκεί τοπικά τόσο αγγειοσυσταλτικές όσο και αγγειοδιασταλτικές δράσεις, ανάλογα με το είδος του υποδοχέα τον οποίο διεγείρει (4,12,18).

Η 5-HT ασκεί τις ενέργειές της μέσω των υποδοχέων 5-HT. Μέχρι σήμερα είναι γνωστοί πέντε τύποι υποδοχέων. Αυτοί είναι οι 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>3</sub>, 5-HT<sub>4</sub> και 5-HT<sub>5</sub>. Επίσης έχουν κλωνοποιηθεί άλλοι δύο υποδοχείς, οι 5-HT<sub>6</sub> και 5-HT<sub>7</sub>. Για κάθε τύπο υποδοχέα υπάρχουν πολλοί υποτύποι υποδοχέων. Από τους υποδοχείς αυτούς, οι 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub> ανήκουν στους επταδιαμεμβρανικούς που συνδέονται με G πρωτεΐνη. Πιθανόν στην ίδια κατηγορία ανήκουν και οι υποδοχείς 5-HT<sub>4</sub> και 5-HT<sub>5</sub>. Αντίθετα, ο υποδοχέας 5-HT<sub>3</sub> αποτελείται από μία πρωτεΐνη στην οποία συνυπάρχει διάυλος ιόντων (19).

Κατά τον ιστικό τραυματισμό, η 5-HT που απελευθερώνεται από τα αιμοπετάλια ασκεί τοπικά εκ διαμέτρου αντίθετες ενέργειες στα αγγεία. Η 5-HT διεγείρει τους υποδοχείς 5-HT<sub>1</sub> στα ενδοθηλιακά κύτταρα και προάγει την απελευθέρωση αγγειοδιασταλτικών ουσιών όπως το NO και οι προσταγλανδίνες. Παράλληλα συσπά τις λείες μυϊκές ίνες του μέσου χιτώνα των μικροαγγείων μέσω των υποδοχέων 5-HT<sub>2A</sub>. Η διέγερση των υποδοχέων 5-HT<sub>2A</sub> στα αιμοπετάλια συμβάλλει στη συγκόλληση των τελευταίων και στο σχηματισμό θρόμβων. Στο επίπεδο του αγγειακού τοιχώματος έχει τη δυνατότητα να προάγει τη σύνθεση και απελευθέρωση της προστακυκλίνης (PGI<sub>2</sub>; Prostacyclin) από τις λείες μυϊκές ίνες του μέσου χιτώνα. Πρόκειται για ισχυρά αγγειοδιασταλτική ουσία και αντιαιμοπεταλιακό παράγοντα. Οι φαινομενικά αντικρουόμενοι μηχανισμοί ουσιαστικά έχουν λειτουργικό νόημα εκφραζόμενο από τις διαφορικές δράσεις σε επιλεγμένες θέσεις. Στα τριχοειδή που στερούνται μυϊκού χιτώνα υπερισχύουν τοπικά η διαστολή και η υπεραϊμία και τα γεγονότα αυτά δίνουν τη δυνατότητα της προσέλευσης φαγοκυτταρικών ιστικών στοιχείων αμέσως μετά τη βλάβη. Αντίθετα στα μικροαγγεία που έχουν μέσο χιτώνα υπερισχύει ο αγγειόσπασμος, ο οποίος συμβάλλει στον περιορισμό του τραυματικού παράγοντα. Παράλληλα συνυπάρχουν και οι δύο αντιρροπιστικοί μηχανισμοί, ώστε να υπάρχει ισορροπία ανάλογα με τις εκάστοτε ανάγκες (12,18).

## **ΑΓΓΕΙΟΔΙΑΣΤΑΛΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΗΣ ΦΑΣΗΣ**

Σε πρώτη φάση, ο τραυματισμός οδηγεί στην άμεση απελευθέρωση ουσιών όπως η ισταμίνη και η 5-υδροξυτρυπταμίνη, οι οποίες είναι ήδη σχηματισμένες και αποθηκευμένες σε κύτταρα, όπως τα σιτευτικά. Η ισταμίνη, με τη σειρά της, προάγει την αγγειοδιαστολή, ενώ η δράση της δεύτερης ποικίλλει, όπως ήδη αναπτύχθηκε. Επίσης, οι ουσίες αυτές ενδυναμώνουν το σήμα που μεθοδεύει τη φλεγμονή συνεργαζόμενες με ουσίες που απελευθερώνονται βραδύτερα. Παράλληλα, δράση ασκεί και η βραδυκινίνη.

### **Ισταμίνη**

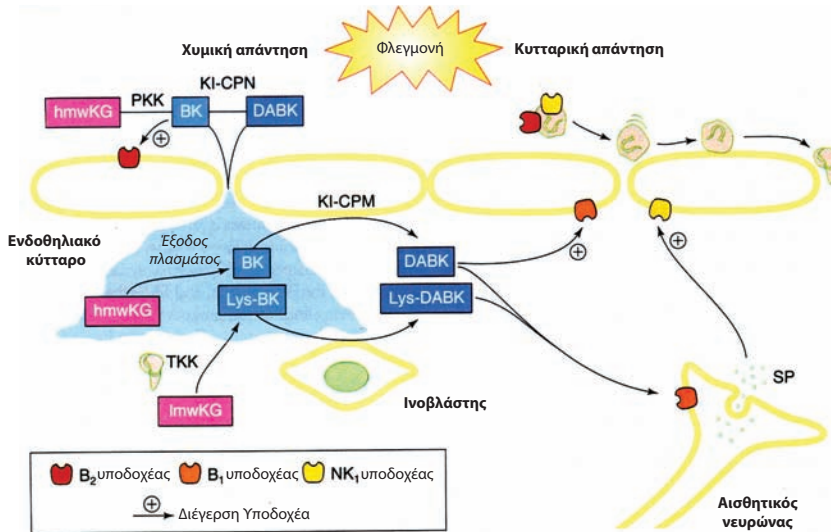
Πρόκειται για μία αμίνη που σχηματίζεται με την αποκαρβοξυλίωση της ιστιδίνης. Ευρίσκεται προσχηματισμένη και αποθηκευμένη σε πολλά κύτταρα της φλεγμονής, όπως τα σιτευτικά κύτταρα και τα βασεόφιλα, και απελευθερώνεται με αποκοκκίωση των κυττάρων αυτών μετά τη διέγερσή τους, η οποία οδηγεί σε αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$  σε αυτά. Πρόκειται για μία ιδιαίτερα αγγειοδραστική ουσία η οποία, μεταξύ άλλων, προκαλεί διαστολή των αγγείων και ιδιαίτερα των τριχοειδών και αύξηση της διαπερατότητάς τους λόγω σύσπασης των ενδοθηλιακών κυττάρων.

Η αγγειοδιαστολή διαμεσολαβείται τόσο μέσω των  $H_1$  – υποδοχέων όσο και μέσω των  $H_2$ -υποδοχέων. Οι υποδοχείς αυτοί είναι επταδιαμεμβρανικοί και συνδέονται με πρωτεΐνη G, η οποία διεγείρει ενζυμικά συστήματα στην κυτταρική μεμβράνη. Οι  $H_1$ - υποδοχείς έχουν μεγαλύτερη συγγένεια προς την ισταμίνη και η αγγειοδιαστολή την οποία προκαλούν είναι ταχεία και σύντομη. Εδράζονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα και ασκούν την ενέργεια αυτή διεγείροντας την απελευθέρωση από αυτά αγγειοδιασταλτικών ουσιών όπως είναι το NO. Οι  $H_2$ -υποδοχείς ευρίσκονται στις λείες μυϊκές ίνες του αγγειακού τοιχώματος και η δράση τους επέρχεται βραδέως και διαρκεί περισσότερο. Προκαλούν χάλαση των λείων μυϊκών ινών διεγείροντας το σύστημα της αδενυλοκυκλάσης στην κυτταρική μεμβράνη των τελευταίων, με συνέπεια την αύξηση της ενδοκυττάριας κυκλικής μονοφωσφορικής αδενοσίνης (cAMP: cyclic Adenosine Monophosphate) η οποία περνά στο κυτταρόπλασμα και προκαλεί ελάττωση του ελεύθερου ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$  (20,21).

### **Βραδυκινίνη**

Πρόκειται για ένα εννεαπεπτίδιο (Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg) το οποίο σχηματίζεται από το μεγάλο μοριακού βάρους κινινογόνο. Ο σχηματισμός αυτός γίνεται με υδρόλυση από το ενεργοποιημένο ένζυμο του πλάσματος καλλικρεΐνη. Η τελευταία ενεργοποιείται με την αλλοστερική δράση του παράγοντα Hageman (XIIa) στην προκαλλικεΐνη του πλάσματος και των ιστών επι τραυματισμού των τελευταίων. Παράλληλα με το σχηματισμό της βραδυκινίνης, η καλλικρεΐνη του πλάσματος και εκείνη των ιστών, δρώντας στο μεγάλο και μικρού μοριακού βάρους κινινογόνο, σχηματίζουν ένα δεκαπεπτίδιο (Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg), την καλλιδίνη. Η ουσία αυτή ονομάζεται και λυσύλ-βραδυκινίνη και έχει τις ίδιες φλογιστικές ενέργειες με τη βραδυκινίνη. Με τη δράση της αμινοπεπτιδάσης στην καλλιδίνη παράγεται επίσης βραδυκινίνη.

Η βραδυκινίνη διασπάται με ταχύτητα σε μικρά ανενεργά πεπτίδια από την κινινάση I (καρβοξυπεπτιδάση N), την κινινάση II (MEA: Μετατρεπτι-



**Εικόνα 4.3: Σχηματικό διάγραμμα που αναπαριστά τη σύνθεση και τα πιθανά σημεία δράσης της DABK (des-Arg-bradykinin) κατά τη φλεγμονή.** Η ενδοαγγειακή σύνθεση της βραδυκινίνης (BK: Bradykinin) επέρχεται με τη δράση της καλλικρεΐνης (PKK:Plasma kallikrein) του πλάσματος στο υψηλού M.B. κινινιγόνο (hmw KG: high molecular weight kininigen). Η κινινάση I-καρβοξυπεπτιδάση N (K1-CPN: Kininase-I-carboxypeptidase N) συνθέτει τη DABK από τη BK. Κατά τη φάση εξόδου του πλάσματος σε απάντηση της φλεγμονώδους αντίδρασης, η BK που συντίθεται στο πλάσμα μπορεί να δράσει στους υποδοχείς-  $B_2$ , ώστε να δυναμώσει άμεσα το σχηματισμό του οιδήματος. Κατά τη διάρκεια της χυμικής απάντησης οι κινίνες που συντίθενται στο πλάσμα καθώς και οι πρόδρομες μορφές αυτών, μπορούν να φθάσουν στην περιοχή της φλεγμονής. Τοπικά μπορεί να συντίθενται κινίνες με τη δράση της ιστικής καλλικρεΐνης (TKK:Tissue kallikrein) την οποία παρέχουν τα διηθούντα λευκοκύτταρα. Όταν η δράση αυτή ασκείται στο χαμηλού M.B. κινινιγόνο (lmw KG: low molecular weight kininigen) σχηματίζεται η Lys-BK, ενώ όταν ασκείται στο εξαγγειωμένο hmw KG, τότε σχηματίζεται η BK. Η κινινάση I-καρβοξυπεπτιδάση M (K1-CPM: Kininase-I-carboxypeptidase M) των ενδοθηλιακών κυττάρων και των ινοβλαστών μετατρέπει τη BK σε DABK και τη Lys-BK σε Lys-DABK. Η DABK και η Lys-DABK διεγείρουν τους υποδοχείς-  $B_1$  που εκφράζονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα και πιθανόν και στα αισθητικά νεύρα, με αποτέλεσμα να διεγείρεται με τη σειρά της η δια του ενδοθηλίου μετανάστευση των λευκοκυττάρων. Κατά τη διάρκεια της φάσης αυτής, τα αισθητικά νεύρα απελευθερώνουν την ουσία P (SP: Substance P) η οποία διεγείρει τους υποδοχείς της στα ενδοθηλιακά κύτταρα.

*Trends Pharmacol. Sci. 20:100-104 (1999)*

κό Ενζυμο της Αγγειοτασίνης I) και την ουδέτερη μεταλλοενδοπεπτιδάση (εγκεφαλίναση). Αυτό δεν συμβαίνει πάντα. Η κινινάση I και συγκεκριμένα δύο μέλη της, η καρβοξυπεπτιδάση N (K1-CPN) στο πλάσμα και η καρβοξυπεπτιδάση M (K1-CPM) στους ιστούς, παράγουν την des-Arg-βραδυκινίνη (DABK) και την des-Arg-Lys-βραδυκινίνη (Lys-DABK). Οι ουσίες αυτές είναι μεν ανενεργές υπό φυσιολογικές συνθήκες, εν τούτοις σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να γίνουν βιολογικά ενεργές (14,21,22).



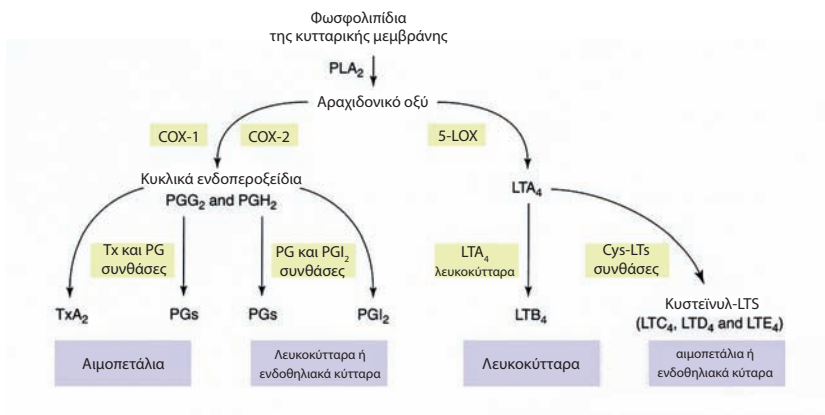
Η βραδυκινίνη είναι μια ισχυρή αγγειοδραστική ουσία η οποία προκαλεί αγγειοδιαστολή και οίδημα. Επίσης προάγει την κινητοποίηση και τη συσσώρευση των λευκοκυττάρων και συγχρόνως είναι ισχυρός ενεργοποιητής του πόνου. Δρα διεγείροντας τους  $B_1$  και  $B_2$ -υποδοχείς. Οι υποδοχείς αυτοί είναι επταδιαμεμβρانيκοί και συνδέονται με πρωτεΐνη G, η οποία διεγείρει ενζυμικά συστήματα στην κυτταρική μεμβράνη. Σε μη φλεγμονώδεις συνθήκες κυριαρχεί η δράση των δομικών  $B_2$ -υποδοχέων οι οποίοι στα ενδοθηλιακά κύτταρα προάγουν την απελευθέρωση αγγειοδιασταλτικών ουσιών όπως το NO και η  $PGI_2$  μέσα από τη διέγερση του συστήματος της φωσφολιπάσης C (PLC: Phospholipase C) το οποίο προκαλεί την αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$ . Σε καταστάσεις φλεγμονής, αναβαθμίζονται ή επάγεται η έκφραση των  $B_1$ -υποδοχέων οι οποίοι και κυριαρχούν. Αναβάθμιση εμφανίζουν και οι αγωνιστές τους. Ως φυσικός αγωνιστής των  $B_1$ -υποδοχέων θεωρείται η DABK και σε ορισμένα κύτταρα η Lys-DABK που είναι χίλιες φορές ισχυρότερη. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα ιστιοκύτταρα φέρουν στην κυτταρική τους μεμβράνη την KI-CPM και μπορούν να συνθέτουν την DABK. Μεταξύ άλλων, οι αγωνιστές που διεγείρουν τους  $B_1$ -υποδοχείς στα κύτταρα της φλεγμονής όπως τα μακροφάγα προάγουν τη σύνθεση των φλεγμονογόνων κυτταροκινών TNF- $\alpha$  και IL-1 (14,21,22).

Υπάρχει η άποψη ότι στην οξεία φάση της φλεγμονής τον πρώτο λόγο έχουν οι  $B_2$ -υποδοχείς οι οποίοι στη συνέχεια απευαισθητοποιούνται, ενώ παράλληλα αναβαθμίζονται οι  $B_1$ -υποδοχείς οι οποίοι χάνουν την ευαισθησία τους για τη βραδυκινίνη και έχουν κυρίαρχο ρόλο στη χρόνια φλεγμονή. Πιστεύεται, επίσης, ότι το σύστημα κίνησης-καλλικρεΐνης συμβάλλει στη μετατροπή της οξείας φλεγμονής σε χρόνια (14).

## **ΑΓΓΕΙΟΔΙΑΣΤΑΛΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΤΗΣ ΔΕΥΤΕΡΗΣ ΦΑΣΗΣ**

Τα κύτταρα που συρρέουν αρχικά στην περιοχή της ιστικής βλάβης συνθέτουν και απελευθερώνουν μεταξύ άλλων και τις φλεγμονογόνες κυτταροκίνες. Οι τελευταίες προάγουν τη γονιδιακή μεταγραφή ενζύμων τα οποία με τη σειρά τους συνθέτουν οξειδίο του αζώτου (NO) και προσταγλανδίνες, τα οποία επιτείνουν την αγγειοδιαστολή (2,23-25).

Επίσης είναι γνωστό ότι μηχανικά και χημικά ερεθίσματα προάγουν την αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$  στο ενδοθηλιακό κύτταρο. Η αύξηση αυτή του  $Ca^{2+}$  διεγείρει τόσο την ενδοθηλιακή συνθετάση του οξειδίου του αζώτου (eNOS: endothelial NO Synthase) όσο και τη φωσφολιπάση  $A_2$  (PLA<sub>2</sub>: Phospholipase A<sub>2</sub>). Η διέγερση της eNOS οδηγεί στη σύνθεση NO. Η διέγερση του ενζύμου PLA<sub>2</sub>, το οποίο ευρίσκεται στην κυτταρική μεμβρά-



**Εικόνα 4.4: Σχηματική παράσταση του μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος στα αιμοπετάλια, στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στα λευκοκύτταρα.** Μετά την ενεργοποίηση των κυττάρων αυτών από διάφορους αγωνιστές στους οποίους συμπεριλαμβάνονται τα φλεγμονώδη ερεθίσματα, η φωσφολιπάση  $A_2$  ( $PLA_2$ ) καταλύει την απελευθέρωση του αραχιδονικού οξέος από τα φωσφολιπίδια των κυτταρικών μεμβρανών. Στη συνέχεια, τα παραπάνω κύτταρα μεταβολίζουν το αραχιδονικό οξύ με τη δράση της COX-1 (Cyclooxygenase-1), της COX-2 και της 5-LOX (5-Lipoxygenase) προς τα ενδιάμεσα ασταθή ενδοϋπεροξειδία  $PGG_2$  και  $PGH_2$  και τη λευκοτριένη  $LTA_4$ . Στη συνέχεια, διάφορες συνθετάσες σχηματίζουν από τα ενδοϋπεροξειδία τη θρομβοξάνη  $A_2$  ( $TXA_2$ ), κυρίως στα αιμοπετάλια και την προστακυκλίνη ( $PGI_2$ ) κυρίως στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Και στα τρία είδη κυττάρων συντίθενται και σταθερές φλεγμονογόνες και προστατευτικές προσταγλανδίνες (PGs). Στα λευκοκύτταρα, η  $LTA_4$  μετατρέπεται σε  $LBA_4$  από την υδρολάση της  $LTA_4$  ή σε κυστινυλο-λευκοτριένες (cysLTs)  $LTC_4$ ,  $LTD_4$ , και  $LTE_4$  με τη δράση των γλουταθειονικών-S-τρανσφερασών που ευρίσκονται στα πλησιέστερα ευρισκόμενα αιμοπετάλια και ενδοθηλιακά κύτταρα. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται διακυτταρικός μεταβολισμός.

*Trends Pharmacol. Sci.* 24: 245-252 (2003)

νη, προκαλεί την υδρόλυση των φωσφολιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης όπως είναι η φωσφατιδυλχολίνη και η φωσφατυλαιθανολαμίνη, με αποτέλεσμα την απελευθέρωση του αραχιδονικού οξέος. Από τη στιγμή που το αραχιδονικό οξύ απελευθερώνεται, ξεκινά ένας καταρράκτης βιοχημικών αντιδράσεων που καταλήγουν στη σύνθεση διαφόρων αγγειοδραστικών ουσιών όπως είναι οι προσταγλανδίνες και οι λευκοτριένες (26-28).

### Προσταγλανδίνες

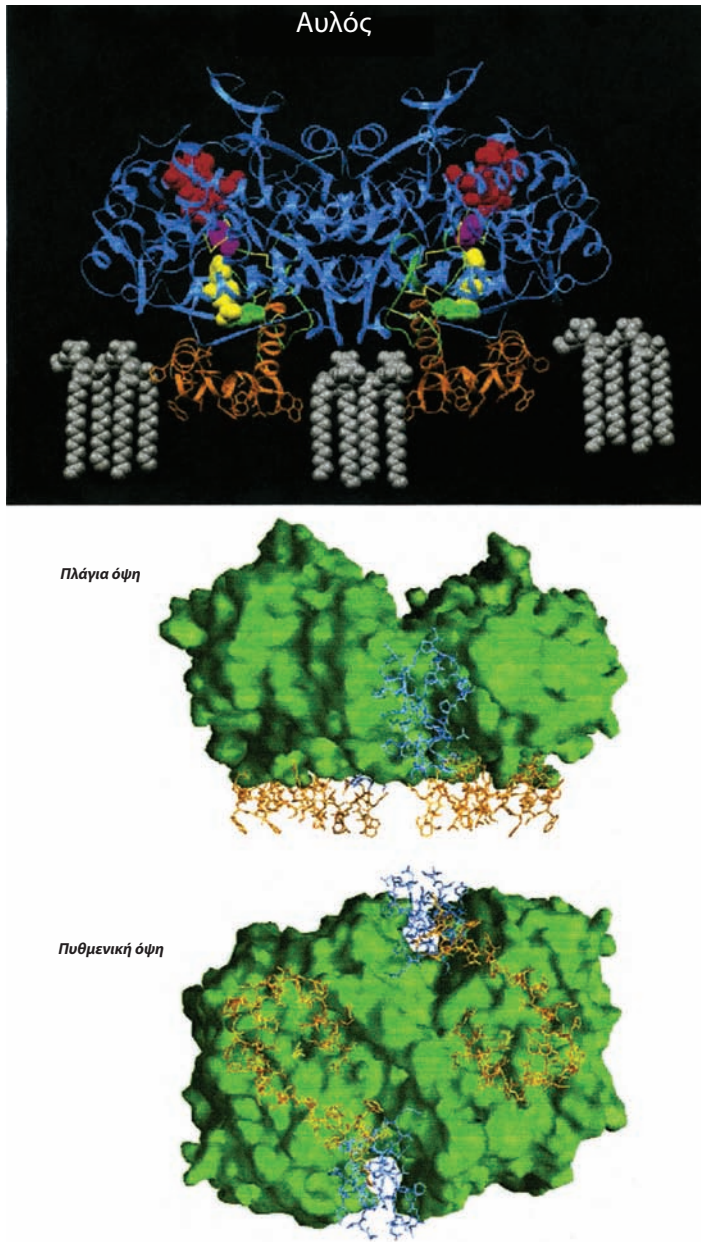
Από το αραχιδονικό οξύ σχηματίζονται σε πρώτη φάση τα ασταθή κυκλικά ενδοπεροξειδία  $PGG_2$  και  $PGH_2$ . Στην αρχή, υπό την επίδραση της COX, το αραχιδονικό οξύ με διπλή οξυγόνωση δίνει το ενδοϋπεροξειδίο  $PGG_2$ . Το μόριο της COX παρουσιάζει μία θέση σύνδεσης με το αραχιδονικό οξύ. Η θέση αυτή ευρίσκεται στο άνω ήμισυ ενός επίμηκους διαύλου που οδηγεί από την ενδοεπιφάνεια του μορίου της COX προς το εσωτερικό αυτού. Οι ενεργείς θέσεις της κυκλοοξυγενάσης ευρίσκονται στο βάθος αυτού του μακρού και στενού υδρόφοβου διαύλου. Βαθιά στο δίαυλο κείται η τυροσίνη

385, ένα αμινοξύ που συμμετέχει στην καταλυτική δράση. Το αραχιδονικό οξύ έρχεται από την κυτταρική μεμβράνη και εισέρχεται στο δίαυλο αυτό, όπου και καταλύεται προς τα παραπάνω αναφερθέντα κυκλικά ενδοϋπεροξειδία (4,13-16).

Η COX υπάρχει σε δύο ισόμορφους τύπους, την COX-1 που θεωρείται δομικό ή ιδιοσυστατικό (constitutional) ένζυμο και την COX-2 που είναι επαγόμενο ένζυμο από παράγοντες όπως οι κυτταροκίνες, οι αυξητικοί παράγοντες και οι ενδοτοξίνες. Η έκφραση της COX-2 επηρεάζεται και από το εύρος της διατμητικής τάσης (shear stress), ενώ η έκφραση της COX-1 όχι. Φαίνεται ότι το mRNA και η πρωτεΐνη του ενζύμου έχουν βραχύτατη διάρκεια ζωής και ότι η επαγωγή έρχεται με την επίδραση των παραπάνω παραγόντων. Οι δύο ισόμορφες COX έχουν κατά 65% όμοιες αλληλουχίες αμινοξέων. Ο προαναφερθείς δίαυλος στο μόριο της COX που ήδη περιγράφηκε, παρουσιάζει έναν παράπλευρο θύλακα που στο μόριο της COX-2 οριοθετείται από τη βαλίνη 523. Το μόριο της COX-1 παρουσιάζει στη θέση της βαλίνης την ισολευκίνη. Η διαφορά αυτή καθιστά το σημείο αυτό μη προσεγγίσιμο σε ορισμένους αναστολείς που δρουν εκλεκτικά στην COX-2, όπως είναι τα δι-αρυλετεροκυκλικά παράγωγα (13,29).

Η COX-2 εκφράζεται έντονα στα κυκλοφορούντα λευκοκύτταρα, στα κύτταρα του αγγειακού τοιχώματος και στα μακροφάγα που διηθούν τις αθηρωματικές πλάκες. Η γενική άποψη που επικρατούσε μέχρι πρόσφατα ήταν ότι η COX-2 είναι υπεύθυνη για τη σύνθεση των προσταγλανδινών στις περιοχές της φλεγμονής, ενώ η COX-1 είναι υπεύθυνη για τη σύνθεση των προστατευτικών προσταγλανδινών που δρουν στο περιθώριο των ομοιοστατικών λειτουργιών, όπως είναι η προστασία του γαστρεντερικού βλεννογόνου, η νεφρική αιμάτωση και η αναστολή της συσώρευσης των αιμοπεταλίων. Η άποψη αυτή έχει αναθεωρηθεί και σήμερα πιστεύεται ότι η COX-2 έχει και φυσιολογικό βιολογικό ρόλο και αποτελεί δομικό ένζυμο ορισμένων ιστών. Αυτό επιβεβαιώνεται από κλινικές παρατηρήσεις. Φάρμακα τα οποία δρουν ως εκλεκτικοί αναστολείς της COX-2, ενώ προστατεύουν τον γαστρικό βλεννογόνο, δεν προστατεύουν τους νεφρούς από την τοξική δράση η οποία είναι συνυφασμένη με τους μη εκλεκτικούς αναστολείς της COX, ενώ παράλληλα δημιουργούν καρδιαγγειακά προβλήματα. Αντίθετα, έχει ευρεθεί αύξηση της COX-1 σε φλεγμονώδεις καταστάσεις (25,30-34).

Επανερχόμενοι στο μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος, διαπιστώνουμε ότι από το σχηματισθέν ασταθές ενδοϋπεροξειδίο  $PGG_2$  με την επίδραση της υπεροξειδάσης, που συνυπάρχει στο μόριο της COX, σχηματίζεται το επίσης ασταθές ενδοϋπεροξειδίο  $PGH_2$ . Από το  $PGH_2$  υπό την επίδραση των ισομερασών σχηματίζονται οι προσταγλανδίνες  $PGE_2$ ,  $PGF_{2\alpha}$  και  $PGD_2$ , υπό την επίδραση της συνθετάσης της προστακυκλίνης η  $PGI_2$  και υπό την



**Εικόνα 4.5:** Σχηματική παράσταση τμήματος του διμερισμένου μορίου της COX-1. **Άνω:** Μεμβρανική επιφάνεια για αλληλεπιδράσεις στο διμερισμένο μόριο. **Κάτω:** Πλάγια και πυθμενική κάτοψη του διμερισμένου μορίου. Ο τομέας σύνδεσης δίκην EGF (Epidermal Growth Factor) και ο τομέας σύνδεσης της μεμβράνης δημιουργούν τη μεμβρανική επιφάνεια αλληλεπιδράσεων. (MBD: Membrane Binding Domain).

*Internet - Medline (2003)*

επίδραση της συνθετάσης της θρομβοξανθής η  $\text{TXA}_2$ . Τα δύο τελευταία παράγωγα είναι ιδιαίτερα δραστικά αλλά ασταθή (27,28,35).

Οι συντιθέμενες προσταγλανδίνες (PGs) ασκούν τις ενέργειές τους διεγείροντας υποδοχείς που συνδέονται με την G-πρωτεΐνη. Οι πέντε κυριότεροι τύποι υποδοχέων είναι οι υποδοχείς-DP για την  $\text{PGD}_2$ , οι υποδοχείς-EP για την  $\text{PGE}_2$ , οι υποδοχείς-FP για την  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , οι υποδοχείς-IP για την  $\text{PGI}_2$  και οι υποδοχείς-TP για την  $\text{TXA}_2$ . Για τους περισσότερους από τους υποδοχείς αυτούς έχουν εντοπισθεί διάφοροι υποτύποι (36).

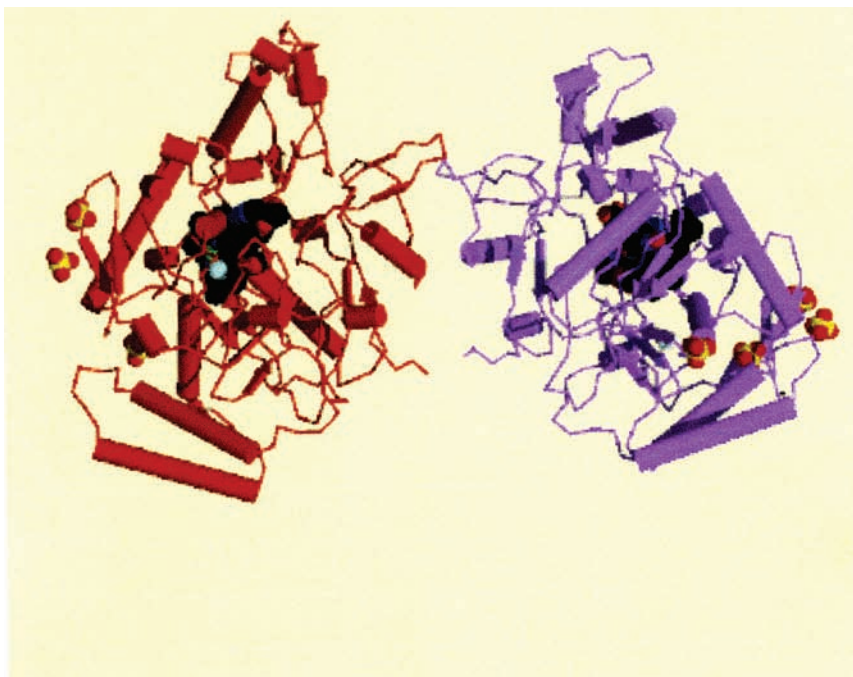
Όπως ήδη αναφέρθηκε, τα προστανοειδή συντίθενται από τα περισσότερα κύτταρα σε απάντηση μηχανικών, θερμικών, χημικών τραυματισμών και γενικά φλεγμονωδών ερεθισμάτων, με αποτέλεσμα, μεταξύ άλλων, την ευαισθητοποίηση ή την άμεση ενεργοποίηση των αισθητικών νευρικών απολήξεων. Από τις PGs αυτές, η  $\text{PGE}_2$  και η  $\text{PGI}_2$  έχουν κυρίαρχο ρόλο στην ευαισθητοποίηση των αισθητικών νευρικών απολήξεων και στην εμφάνιση του πόνου (36).

### **Το οξειδίο του αζώτου**



Το οξειδίο του αζώτου ή νιτροξειδίο (NO) είναι μία πολυδύναμη βιολογική μεταβιβαστική ουσία που υπό ορισμένες συνθήκες μπορεί να αποβεί μία τοξική ελεύθερη ρίζα. Καθημερινά αποκαλύπτονται νέοι βιοχημικοί ρόλοι και συμμετοχή σε όλο και περισσότερες φυσιολογικές λειτουργίες. Οι κυριότερες από αυτές είναι η αγγειοδιαστολή, η ρύθμιση της νευρομεταβιβασης, η ανοσιακή απόκριση, η λειτουργία των μιτοχονδρίων και η γονιδιακή έκφραση (26,37-39).

Βασικό ένζυμο για τη σύνθεση του NO είναι η συνθετάση του NO (NOS: NO Synthase). Το ένζυμο αυτό καταλύει στα κύτταρα τη μετατροπή της L-αργινίνης σε κιτροουλίνη και NO παρουσία μοριακού οξυγόνου και με ενδιάμεσο προϊόν την N-υδροξυ-L-αργινίνη. Ουσίες όπως η τετραϋδροβιοπτερίνη, το αναχθέν φωσφορικό νικοτιναμιδο-αδενινο-δινουκλεοτίδιο (NADPH: Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate) και η φλαβίνη δρουν ως οξειδοαναγωγικοί συμπαράγοντες της όλης αντίδρασης. Υπάρχουν δύο είδη NOS. Η δομική ή ιδιосуστατική ή θεμελιώδης (cNOS: constitutive NOS) και η επαγόμενη (iNOS: inducible NOS). Η άποψη ότι η cNOS συνθέτει NO που συμμετέχει μόνο σε φυσιολογικές λειτουργίες φαίνεται ότι δεν ευσταθεί απόλυτα σήμερα (37-44).



Οξειδίο του αζώτου παράγεται και στα μιτοχόνδρια από την mtNOS. Η δράση του ενζύμου αυτού είναι ασβεστιοεξαρτώμενη και το παραγόμενο NO ρυθμίζει τη μιτοχονδριακή κατανάλωση οξυγόνου και το διαμεμβρανικό δυναμικό μέσα από μια αντιστρεπτή αντίδραση με το c-κυτόχρωμα. Η αντίδραση του παραγόμενου NO με το υπεροξειδικό ανιόν οδηγεί στη



• Ίχνος κύριας αλυσίδας

-  Αλυσίδα: **A** (420 υπόλοιπα) – [Κ&S: 19 έλικες, 11 δεσμοί]
-  Αλυσίδα: **B** (420 υπόλοιπα) – [Κ&S: 19 έλικες, 13 δεσμοί]

• Προσδέτες

-  2 x προσδέτης: **HEM**
-  2 x προσδέτης: **4AB**
-  8 x προσδέτης: **SO4**
-  2 x προσδέτης: **HAR**

• Μέταλλα

-  2 FE ιόντα
-  2 ZN ιόντα

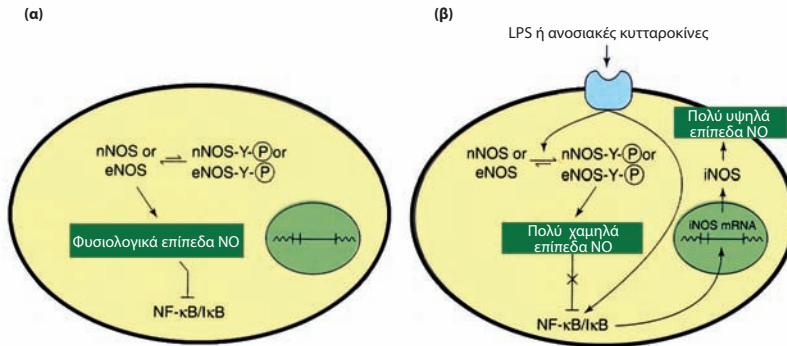
**Εικόνα 4.6:** Στεροχημική αναπαράσταση του μορίου της συνθετάσης του οξειδίου του αζώτου (NO). Αναπαρίστανται οι θέσεις της κύριας αλυσίδας, οι δεσμοί και τα ιόντα των μετάλλων. *Internet - Medline (2003)*

σύνθεση της ρίζας του υπεροξυνιτρώδους, η οποία με τη σειρά της προάγει το οξειδωτικό στρες (45).

Η cNOS είναι ένα ένζυμο συνεχούς λειτουργίας και συνθέτει NO σε μικρές ποσότητες για την κάλυψη βασικών δραστηριοτήτων του κυττάρου. Η cNOS αντιπροσωπεύει περίπου το 95% της συνολικής NOS στον νευρικό ιστό (nNOS) και στα ενδοθηλιακά κύτταρα (eNOS). Η cNOS είναι ασβεστιοεξαρτώμενη και η ενεργοποίησή της εξαρτάται από το σχηματισμό του συμπλόκου  $Ca^{2+}$ -καλμοδουλίνη. Ενώ όμως στην cNOS αποδιδόταν μέχρι πρόσφατα μόνο φυσιολογικός ρόλος, φαίνεται ότι το ίδιο ένζυμο έχει ρόλο και κατά την εξέλιξη της φλεγμονής. Συγκεκριμένα, έχει διαπιστωθεί ότι το NO που παράγεται από την ενδοθηλιακή μορφή της cNOS, δηλαδή την eNOS, έχει διπλό ρόλο. Υπό φυσιολογικές συνθήκες δρα αρνητικά στις αντιδράσεις ενδοθηλίου και φλεγμονωδών παραγόντων, ενώ υπό παθολογικές συνθήκες προάγει δύο βασικά στοιχεία της φλεγμονής. Αυτά είναι η αυξημένη διαβατότητα του ενδοθηλίου και η αγγειογένεση (32).

Πράγματι, νεότερες απόψεις συνηγορούν στο γεγονός ότι και η eNOS έχει κεντρικό ρόλο στην εξέλιξη της φλεγμονής. Η eNOS ευρίσκεται εναποθηκευμένη σε ενθυλακώσεις στην κυτταρική μεμβράνη των ενδοθηλιακών κυττάρων συνδεδεμένη με την καβεολίνη-1 (CAV-1), η οποία δρα ως ανασταλτικό μόριο. Η διέγερση των ενδοθηλιακών κυττάρων από τους διάφορους μεσολαβητές οδηγεί σε ελάττωση της ανασταλτικής δράσης της CAV-1 και στο σχηματισμό ενεργού συμπλόκου με άλλες πρωτεΐνες. Μεταξύ των πρωτεϊνών που συνδέονται με την eNOS και προάγουν την ενεργότητά της περιλαμβάνονται η καλμοδουλίνη και η πρωτεΐνη θερμικής καταπληξίας 90 (HSP90: Heat Shock Protein 90). Ακολουθεί η φωσφορυλίωση της eNOS στη θέση σερίνη1177 από μία σερίνη/θρεονίνη κινάση Akt (πρωτεϊνική κινάση B) και με το μηχανισμό αυτό πολλαπλασιάζεται η ενεργότητα του ενζύμου (32).

Η διέγερση πάλι της iNOS οδηγεί στη σύνθεση πολλαπλάσιας ποσότητας NO με σκοπό την κάλυψη καταστάσεων ανάγκης. Η iNOS ευρίσκεται κυρίως στα μακροφάγα και στις λείες μυϊκές ίνες, συντίθεται όμως από μία μεγάλη ποικιλία κυττάρων όπως τα μυοκαρδιακά κύτταρα, τα επιθηλιακά κύτταρα και τα αστροκύτταρα, ενώ απαντά σε μικρές ποσότητες και σε άλλα κύτταρα. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η iNOS παραμένει μεταγραφικά σιωπηλή στους περισσότερους μη διεγερμένους ιστούς. Τα επίπεδα της iNOS, που είναι ασβεστιοανεξάρτητη, αυξάνονται ύστερα από την επίδραση στην κυτταρική μεμβράνη διαφόρων μικροβιακών λιποπολυσακχαριδίων αλλά και φλεγμονογόνων κυτταροκινών, όπως η ενδοτοξίνη, η ιντερλευκίνη -1β και ο νεκρωτικός των όγκων παράγοντας-α (TNF-α). Το αποτέλεσμα είναι η παραγωγή, όπως αναφέρθηκε, μεγάλων ποσοτήτων NO. Αυτό συμβαίνει



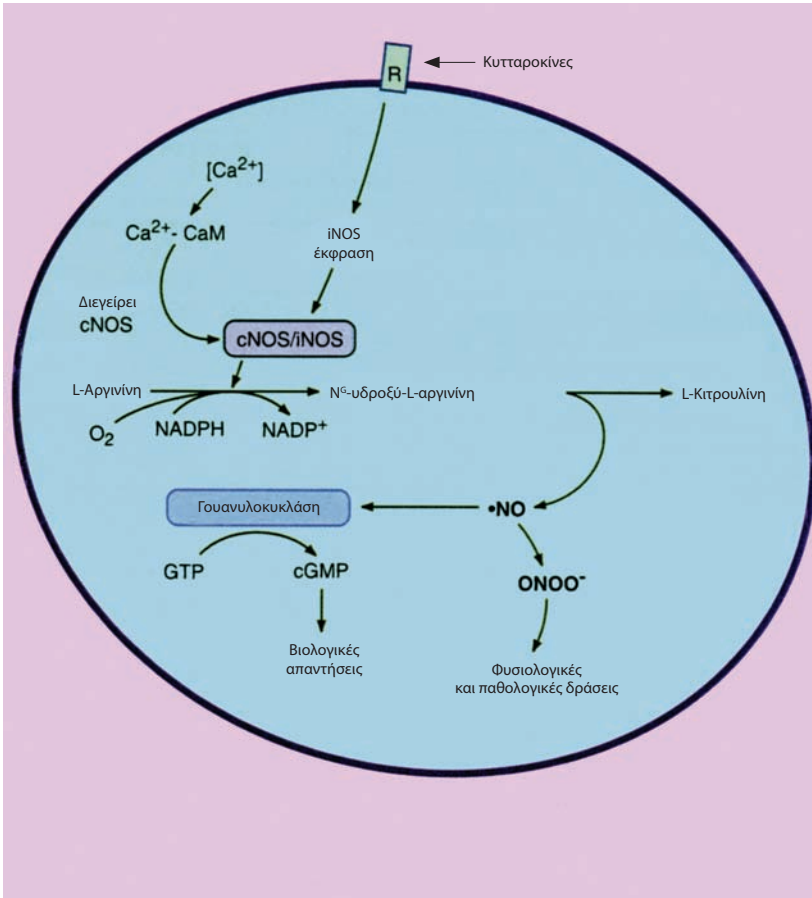
**Εικόνα 4.7: Σύνθεση του οξειδίου του αζώτου (NO) υπό φυσιολογικές και υπό παθολογικές συνθήκες. (α)** Υπό κανονικές συνθήκες, τα επίπεδα του NO διατηρούνται σε φυσιολογικά όρια και η σύνθεσή του ρυθμίζεται από τις δομικές συνθετάσες του NO (cNOS: constitutive NO synthase), όπως είναι η eNOS (endothelial NOS) και η nNOS (neuronal NOS). Τα επίπεδα αυτά του NO μπορούν και διατηρούν τον μεταγραφικό παράγοντα NF-κB σε καταστολή. Η δράση αυτή του NO συμβάλλει στον περιορισμό της ανοσιακής και της φλεγμονώδους απάντησης. **(β)** Όταν υπάρξει ιστικός τραυματισμός από οιαδήποτε αιτία, τότε οι λιποπολυσακχαρίδες (LPS: Lipopolysaccharides) των μικροβίων ή οι κυτταροκίνες που απελευθερώνονται στρέφουν την ισορροπία προς τη φωσφορυλίωση και αδρανιοποίηση των eNOS και nNOS, με αποτέλεσμα την απότομη πτώση των ενδοκυττάρων επιπέδων του NO. Αυτό προκαλεί την ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NF-κB ο οποίος προάγει τη γονιδιακή μεταγραφή της επαγόμενης NOS (iNOS: inducible NOS). Το αποτέλεσμα είναι η αθρόα παραγωγή NO που φθάνει σε υψηλά επίπεδα. Κάθε παράγωγο που θα μπορούσε να ελαττώσει τα ενδοκυττάρια επίπεδα του NO, όπως φάρμακα αναστολείς των eNOS, και η nNOS θα μπορούσαν να μιμηθούν ανάλογες καταστάσεις. Αντίθετα, φάρμακα που θα μπορούσαν εκλεκτικά να αναστείλουν τη βιοχημική οδό σύνθεσης και δράσης της iNOS θα μπορούσαν να αναστείλουν την κινητοποίηση των μηχανισμών αυτών.

*Trends Pharmacol. Sci.* 21: 249-252 (2000)

ιδιαίτερα σε φλεγμονώδεις καταστάσεις και στη σηψαιμική καταπληξία. Η παρουσία της iNOS μόνο σε φλεγμονώδεις καταστάσεις αμφισβητείται σήμερα (46,47).

Ιδιαίτερα η ενεργοποίηση των φαγοκυττάρων έχει ως αποτέλεσμα τη σύνθεση και απελευθέρωση ισχυρών φλεγμονογόνων κυτταροκινών, μεταξύ των οποίων συγκαταλέγονται ο TNF-α και η ιντερλευκίνη-1. Σε μοριακό επίπεδο, ορισμένες από τις κυτταροκίνες αυτές, όπως ο TNF-α, προάγουν μέσα από τη διέγερση του μεταγραφικού παράγοντα NFκB τη γονιδιακή έκφραση τόσο της iNOS όσο και άλλων φλεγμονωδών πρωτεϊνών, όπως είναι τα μόρια προσκόλλησης CAMs και η COX-2, σε μία ποικιλία κυττάρων όπως είναι τα μακροφάγα, τα καρδιακά μυϊκά κύτταρα, τα επιθηλιακά κύτταρα, τα αστροκύτταρα και τα κύτταρα του έσω πετάλου του βωμανίου ελύτρου. Στα μη διεγερμένα κύτταρα, ο παράγοντας NFκB ευρίσκεται ενωμένος στο κυτταρόπλασμα, με μία ανασταλτική πρωτεΐνη, την IκB, με τη μορφή αδρανούς συμπλόκου. Οι κυτταροκίνες όμως ενεργοποιούν τις IκB κινάσες που φω-





**Εικόνα 4.8: Βιοχημικές οδοί σύνθεσης και δράσης του οξειδίου του αζώτου.** Το οξείδιο του αζώτου (NO) αποτελεί ιδιαίτερης σημασίας μόριο σήματος για τους νευρώνες, τα αγγεία και το ανοσιακό σύστημα. Καθώς οι κυτταροκίνες διεγείρουν τους υποδοχείς τους (R:Receptor) στα κύτταρα στόχους, όπως είναι τα μακροφάγα, μέσα από πολύπλοκες διαδικασίες προάγεται η γονιδιακή έκφραση και σύνθεση της iNOS (inducible NO Synthase: επαγόμενη συνθετάση του NO). Η τελευταία καταλύει τη μετατροπή της L-αργινίνης σε κίτρουλίνη και NO παρουσία μοριακού οξυγόνου, NADPH, βιοπτερίνης (BH<sub>4</sub>) και φλαβίνης ως συμπαραγόντων. Ενδιάμεσο προϊόν η N<sup>6</sup>-υδροξυ-L-αργινίνη. Σε άλλα κύτταρα, όπως τα ενδοθηλιακά κύτταρα, και στους νευρώνες η cNOS (constitutive NOS: δομική NOS) συνθέτει NO με την ίδια αντίδραση η οποία όμως εξαρτάται από το Ca<sup>2+</sup> και μάλιστα όταν το τελευταίο συνδέεται σε σύμπλοκο με την καλμοδουλίνη (CaM). Το NO που έχει βραχύτατη ημιπερίοδο ζωής (t<sub>1/2</sub>) ολίγων δευτερολέπτων και επειδή είναι τόσο υδατοδιαλυτό όσο και λιποδιαλυτό, διαχέεται δια μέσου των κυτταρικών μεμβρανών και του κυτταροπλάσματος. Στα κύτταρα στόχους διεγείρει τη γουανυλοκυκλάση στο κυτταρόπλασμα (Guanylate cyclase) η οποία προάγει τη μετατροπή της τριφωσφορικής γουανοσίνης (GTP) σε κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη (cGMP), η οποία με τη σειρά της μεθοδεύει τη βιολογική απάντηση του κυττάρου. Σε καταστάσεις οξειδωτικού στρες αντιδρά με το υπεροξειδικό ανιόν και σχηματίζει τη ρίζα του υπεροξυνιτρώδους (ONOO<sup>-</sup>). Η ρίζα αυτή είναι τοξική κυτταροτοξίνη.

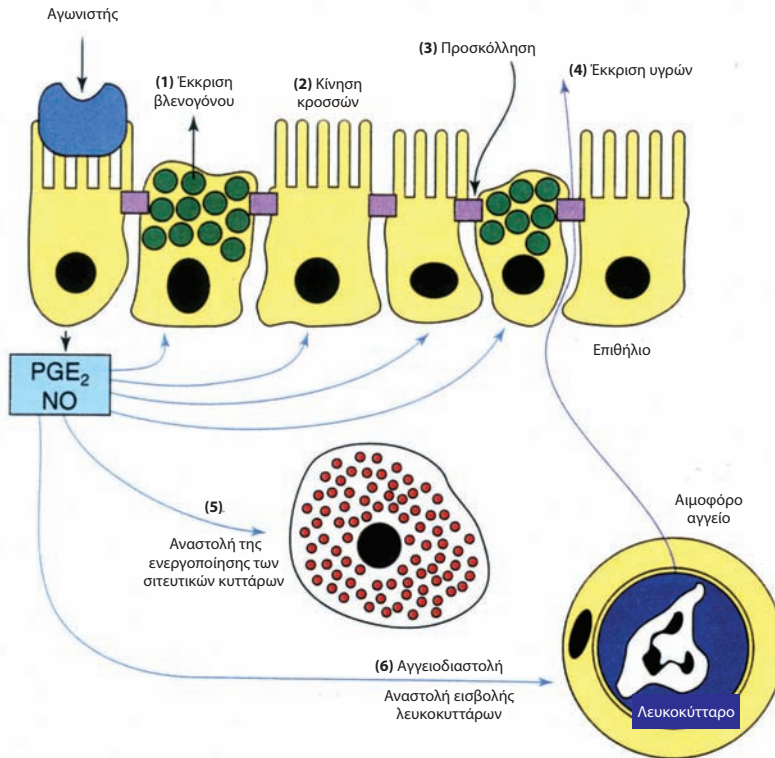
*Sigma: Signal Transduction and Neuroscience (1999)*

σφορυλιώνουν την IκB στα σημεία Ser32 και Ser36. Το αποτέλεσμα είναι να διασπάται το παραπάνω σύμπλοκο και να απελευθερώνεται ο παράγοντας NFκB. Τότε από τον παράγοντα NFκB αποσπώνται οι υπομονάδες p5 και p50, οι οποίες έρχονται στον πυρήνα όπου συνδέονται με γονίδια στόχους που κωδικοποιούν τους παραπάνω προφλεγμονώδεις παράγοντες. Ενδογενείς ουσίες όπως τα γλυκοκορτικοειδή, η δεξαμεθαζόνη, τα οιστρογόνα και ο μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας (TFG-β: Transforming Growth Factor-β) δρουν ανασταλτικά σε διάφορα μοριακά επίπεδα και κυρίως στη γονιδιακή μεταγραφή της iNOS (48).

Το NO είναι από μακρού χρόνου γνωστό ως ρυθμιστής της ανοσιακής απόκρισης. Η σύνθεσή του εμφανίζεται, όπως ήδη αναφέρθηκε, αυξημένη σε παθήσεις που απειλούν το ανοσιακό σύστημα. Ο ρόλος του στην εξέλιξη της φλεγμονής θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως διπρόσωπος. Στην πραγματικότητα, όμως, συμβάλλει στην ενεργοποίηση αντιρροπιστικών μηχανισμών και στη διατήρηση διαφόρων ισορροπιών.

Το NO είναι ένας από τους παράγοντες που προάγουν την αγγειοδιαστολή κατά την εξέλιξη της φλεγμονής. Σε μοριακό επίπεδο, το NO διαχέεται προς τις λείες μυϊκές ίνες του μέσου αγγειακού χιτώνα, όπου διεγείρει ένα κυτταροπλασματικό ένζυμο, τη διαλυτή γουανυλοκυκλάση (sGC). Η ενεργοποίηση της sGC καταλύει τη μετατροπή της τριφωσφορικής γουανοσίνης (GTP) προς κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη (cGMP). Η μετατροπή αυτή εξαρτάται από την παρουσία δισθενών κατιόντων όπως το  $Mg^{2+}$  και το  $Mn^{2+}$ . Ο σχηματισμός της cGMP έχει ως αποτέλεσμα την ελάττωση του ενδοκυττάριου  $Ca^{2+}$  στις λείες μυϊκές ίνες και την τελική χάλαση αυτών. Η ελάττωση αυτή γίνεται μέσω της ενεργοποίησης της πρωτεϊνικής κινάσης G (PKG: Protein Kinase G) με πολλαπλούς μηχανισμούς (26,49-51).

Συγχρόνως το NO δρα ανασταλτικά σε μηχανισμούς που προάγουν τη φλεγμονή. Αναστέλλει την ενεργοποίηση των σιτευτικών κυττάρων πιθανόν με μηχανισμό δέσμευσης του υπεροξειδικού ανιόντος και με τον τρόπο αυτό επηρεάζει έμμεσα αρνητικά τη διαδικασία εξαγγείωσης των πολυμορφοπύρηνων λευκοκυττάρων. Παράλληλα, το NO δρα ανασταλτικά και στη γονιδιακή έκφραση του προφλεγμονώδους μορίου προσκόλλησης P-σελεκτίνη, εμποδίζοντας με τον τρόπο αυτό την προσκόλληση και εξαγγείωση κυτταρικών στοιχείων του αίματος. Το NO πάλι, με τη σειρά του, μπορεί να έχει θετικό ή αρνητικό ρόλο στην ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NFκB και στη γονιδιακή έκφραση προφλεγμονωδών πρωτεϊνών. Το NO ρυθμίζει την έκφραση τόσο της COX-1 όσο και της COX-2 με πολύπλοκους θετικούς και αρνητικούς μηχανισμούς ανατροφοδότησης (feed back). Μπορεί να διατυπωθεί η άποψη ότι το NO συμβάλλει στην έκπλυση του πεδίου της φλεγμονής από τα προϊόντα της, αφού συντηρεί την αγγειοδιαστολή,

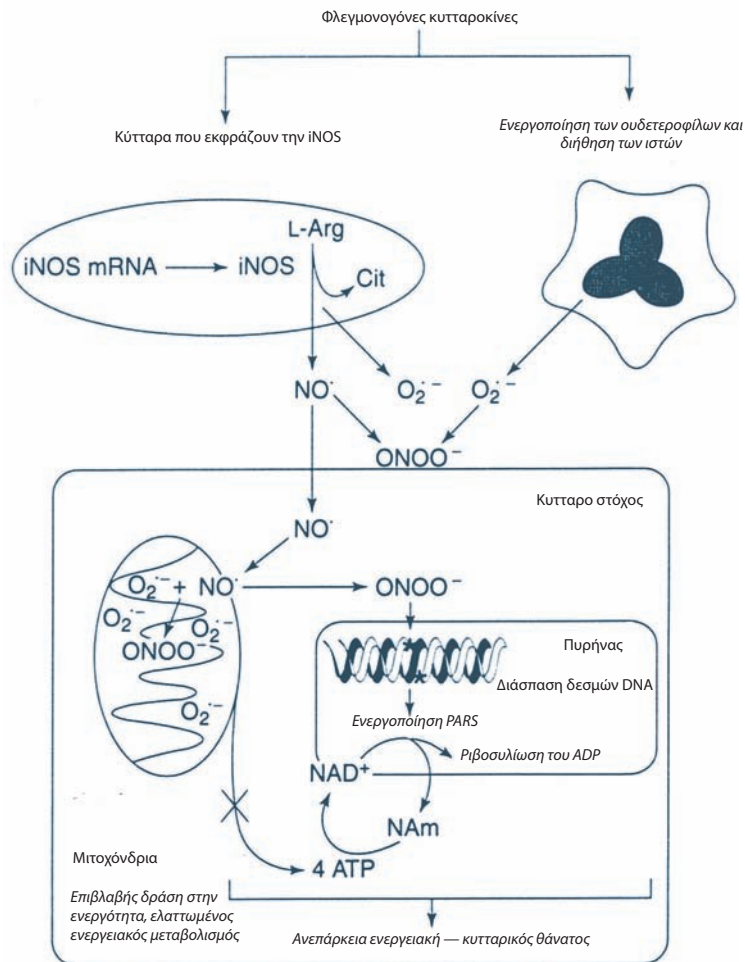


**Εικόνα 4.9:** Σχηματική παράσταση των οξέων προστατευτικών μηχανισμών του αναπνευστικού επιθηλίου από την προσταγλανδίνη  $E_2$  ( $PGE_2$ ) και το οξείδιο του αζώτου (NO). Οι ενδογενώς συντιθέμενες  $PGE_2$  και NO ασκούν δράσεις τόσο στο επιθήλιο όσο και στους περιξιστούς. Τα επιθηλιακά κύτταρα απαντούν στους παράγοντες αυτούς αυξάνοντας την έκκριση των βλενογόνων, τις κινήσεις των κροσσών, τους δεσμούς ανάμεσα στα κύτταρα και τη μεταφορά ιόντων στον βλενογόνο που βοηθεί τη μεταφορά υγρών στον αυλό. Με τις ενέργειες αυτές προστατεύεται ο επιθηλιακός φραγμός. Η  $PGE_2$  και το NO δρουν ανασταλτικά στη διέγερση των τοπικών ανοσιακών κυττάρων και αυξάνουν την τοπική ροή αίματος. Όλες αυτές οι ενέργειες περιορίζουν την προσέγγιση των παθογόνων μικροοργανισμών του αυλού και εμποδίζουν την ανάπτυξη πιο επιθετικών φλεγμονωδών αντιδράσεων.

*Trends Pharmacol. Sci. 21: 103-108 (2000)*

άρα και τη διαπίδυση πλάσματος, αλλά αναστέλλει την επιστράτευση νέων κυτταρικών στοιχείων (29,38).

Ο διπλός χαρακτήρας του NO εμφανίζεται επίσης με την ικανότητα την οποία διαθέτει άλλοτε μεν να προστατεύει το κύτταρο από την απόπτωση, άλλοτε δε να το οδηγεί σε αυτήν. Η κυτταρική απόπτωση είναι λεπτός και εν πολλοίς άγνωστος στις λεπτομέρειες μηχανισμός που αποσκοπεί στο να απομακρύνει κύτταρα χωρίς φλεγμονώδη αντίδραση. Η αναστολή της απο-



**Εικόνα 4.10: Σχηματική παράσταση η οποία αφορά το ρόλο του υπεροξεινιτρώδους στη διέγερση της πολύ (ADP-ριβόζο) συνθετάσης (PARS: PolyADP-Ribose Synthetase).** Προφλεγμονώδεις συνθήκες προκαλούν την επαγωγή της iNOS (inducible NO Synthetase). Στις περιπτώσεις αυτές το NO αντιδρά με το υπεροξειδικό ανιόν, που παράγεται και από τα ενεργοποιημένα και διηθούντα τους ιστούς ουδετερόφιλα, και σχηματίζει την υπεροξεινιτρική ρίζα (ONOO<sup>-</sup>). Το υπεροξεινιτρώδες αλλά και τα προϊόντα αποδομής του προκαλούν τη διάσπαση των δεσμών στο DNA με συνέπεια να ενεργοποιείται το πυρηνικό ένζυμο πολύ (ADP-ριβόζο) συνθετάση (PARS: PolyADP-Ribose Synthetase). Η ενεργοποίηση των PARS οδηγεί σε αυξημένη κατανάλωση των NAD<sup>+</sup> που είναι απαραίτητες για τη γλυκόλυση και την προμήθεια της ATP, η οποία αποτελεί πηγή ενέργειας για το κύτταρο. Η αναστολή όλων αυτών των βιοχημικών οδών οδηγεί σε κυτταρική δυσλειτουργία και θάνατο του κυττάρου. Παράλληλα, τα PARS ενεργοποιούν και στρατεύουν τα ουδετερόφιλα στο χώρο της φλεγμονής.

*Trends Pharmacol. Sci. 19: 287-298 (1998)*

πτωτικής διαδικασίας από το NO μπορεί να έχει δύο συνέπειες: Στην πρώτη περίπτωση δίνεται η δυνατότητα στο προβληματικό κύτταρο να αναλάβει και να επιβιώσει. Στη δεύτερη περίπτωση, όταν το αίτιο που προσέβαλε το κύτταρο είναι θανατηφόρο, αντί για απόπτωση θα υπάρξει νέκρωση με όλα τα επακόλουθα φλεγμονώδη φαινόμενα (52,53).

Συχνά, όμως, ο χαρακτήρας του NO κατά την εξέλιξη της φλεγμονής γίνεται καθαρά παθολογικός. Στις περιπτώσεις αυτές το NO αντιδρά με το υπεροξειδικό ανιόν, που παράγεται και από τα ενεργοποιημένα και διηθούντα τους ιστούς ουδετερόφιλα, και σχηματίζει την υπεροξυνιτρική ρίζα (ONOO<sup>-</sup>) ή υπεροξυνιτρώδες. Το υπεροξυνιτρώδες αυτό αλλά και τα προϊόντα αποδομής του είναι τοξικά για το ενδοθηλιακό αλλά και κάθε άλλο κύτταρο, διότι προκαλούν διάσπαση των δεσμών στο DNA με συνέπεια να ενεργοποιείται το πυρηνικό ένζυμο πολύ (ADP-ριβόζο) συνθετάση (PARS: PolyADP-Ribose Synthetase). Η ενεργοποίηση των PARS οδηγεί σε αυξημένη κατανάλωση των NAD<sup>+</sup> που είναι απαραίτητες για τη γλυκόλυση και την προμήθεια της ATP η οποία, με τη σειρά της, είναι απαραίτητη πηγή ενέργειας για τις περισσότερες κυτταρικές λειτουργίες, ενώ παράλληλα χρησιμεύουν ως πρόδρομες ουσίες για τη σύνθεση της NADPH (Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate). Η τελευταία είναι απαραίτητη για τον κύκλο των πεντοζών, για αναγωγικές βιοχημικές οδούς και για τη διατήρηση των αποθεμάτων της αναχθείσης γλουταθειόνης. Η αναστολή όλων αυτών των βιοχημικών οδών οδηγεί σε κυτταρική δυσλειτουργία και θάνατο του κυττάρου. Οδηγεί όμως παράλληλα σε δυσλειτουργία και θάνατο των κυττάρων που συνθέτουν την iNOS καθώς και των παρακειμένων κυττάρων. Παράλληλα, τα PARS ενεργοποιούν και στρατεύουν τα ουδετερόφιλα στο χώρο της φλεγμονής (47,54-56).

### **ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗ ΔΙΑΠΙΔΥΣΗ ΤΩΝ ΛΕΥΚΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΔΙΑ ΤΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ**

Για την παγματοποίηση της διαπίδυσης των λευκοκυττάρων απαραίτητη προϋπόθεση είναι η σύσπαση των ενδοθηλιακών κυττάρων. Από τα χάσματα που δημιουργούνται μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων μπορούν να περάσουν εύκολα πλέον δια της βασικής μεμβράνης οι πρωτεΐνες και τα υγρά του πλάσματος. Μεταξύ των γνωστών χημικών παραγόντων οι οποίοι προάγουν τη σύσπαση των ενδοθηλιακών κυττάρων περιλαμβάνονται η ισταμίνη, οι λευκοτριένες, η βραδυκινίνη, ο PAF και τα τμήματα C3a και C5a από την ενεργοποίηση του συμπληρώματος. Μεσολαβητές, επίσης, αυτού του μηχανισμού μετά ένα μακρότερο διάστημα είναι ο TNF-α και η

IL-1. Δεν είναι όμως ακριβώς γνωστοί οι μηχανισμοί με τους οποίους τα λευκοκύτταρα περνούν μέσα από το ενδοθήλιο και εισέρχονται στους υποκείμενους ιστούς. Σύμφωνα με τα μέχρι τώρα δεδομένα, πιστεύεται ότι έχουν σημαντικό ρόλο στους μηχανισμούς αυτούς τα μόρια HEVCD44 και τα μόρια των γλυκοκαλύκων HEV που ευρίσκονται στο εξωκυττάριο στρώμα και καλύπτουν το τοίχωμά τους προβάλλοντας προς τα έξω. Επίσης πιστεύεται ότι είναι απαραίτητη η έκφραση των μεταλλοπρωτεϊνικών στρώματος, οι οποίες είναι σε θέση να διαλύσουν την υποενδοθηλιακή μεμβράνη η οποία είναι πλούσια σε μη ινώδες κολλαγόνο, ώστε να γίνει δυνατή η διείσδυση των λευκοκυττάρων (3,21).

Στις γραμμές που ακολουθούν γίνεται σύντομη αναφορά στους παράγοντες εκείνους που είτε δεν έχουν μέχρι τώρα αναπτυχθεί είτε δεν έχει γίνει λόγος για τη συγκεκριμένη αυτή ενέργειά τους.

### **Ισταμίνη**

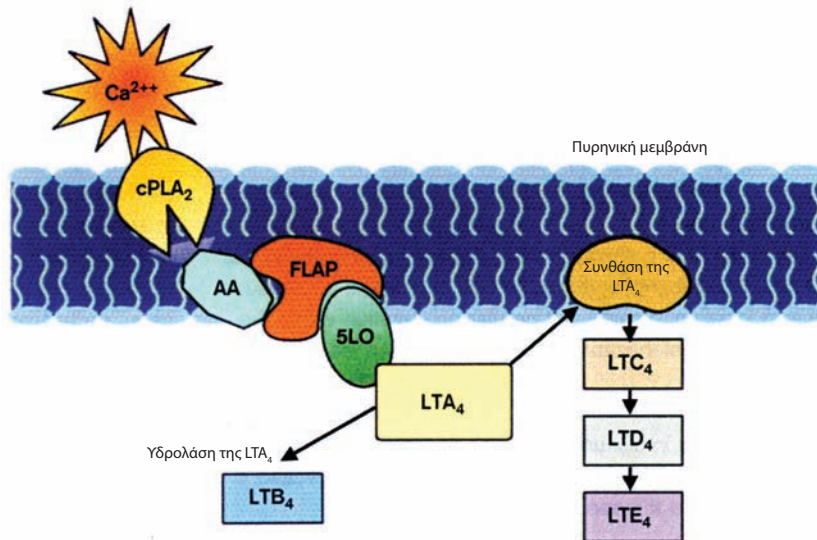
Η φαρμακολογική ταυτότητα της ισταμίνης και οι μηχανισμοί με τους οποίους προκαλεί αγγειοδιαστολή έχουν ήδη αναπτυχθεί. Η ισταμίνη, όμως, συμμετέχει και στους μηχανισμούς οι οποίοι αυξάνουν τη διαπερατότητα του ενδοθηλίου. Αυτό γίνεται μετά από σύσπαση των ενδοθηλιακών κυττάρων. Η σύσπαση των ενδοθηλιακών κυττάρων αφορά κυρίως τα μετατριχοειδή φλεβίδια και μεθοδεύεται από τους  $H_1$ -υποδοχείς. Η ενέργεια αυτή διαμεσολαβείται μέσα από τη διέγερση του συστήματος της PLC, το οποίο προκαλεί το σχηματισμό της τριφωσφορικής ινοσιτόλης ( $IP_3$ ) η οποία περνά στο κυτταρόπλασμα και προάγει την αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$ . Η διέγερση των ίδιων υποδοχέων προάγει τη στράτευση των λευκοκυττάρων και την προσκόλλησή τους στο ενδοθήλιο με την επαγωγή της έκφρασης της P-σελεκτίνης. Η αγγειοδιαστολή και η αύξηση της διαπερατότητας του ενδοθηλίου εκδηλώνονται κλινικά με την εμφάνιση ερυθρότητας, οιδήματος και κνησμού. Η ίδια ουσία διεγείρει την έκκριση της βλέννας και έχει ουσιαστικό ρόλο στην παθογένεια των αλλεργικών φλεγμονωδών φαινομένων (21,22).

### **Λευκοτριένες**

Οι λευκοτριένες είναι προϊόντα μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος μέσα από το βιοχημικό μονοπάτι της λιποοξυγενάσης και συντίθενται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα διάφορα κύτταρα της φλεγμονής και τα κύτταρα του παρεγχύματος. Οι λιποοξυγενάσες (LOXs: Lipoxygenases) είναι μία οικογένεια ενζύμων του κυτταροπλάσματος οι οποίες καταλύουν την οξυγόνωση των πολυενικών λιπαρών οξέων προς τα αντίστοιχα υδροϋπεροξειδία των λιπιδίων.

Με τη δράση των LOXs στο αραχιδονικό οξύ σχηματίζονται ασταθή προϊόντα τα οποία ονομάζονται υδροπεροξεικοσατετρανοϊκά οξέα (HPETEs: Hydroperoxyicosatetraenoic acids). Τα αιμοπετάλια έχουν μόνο την 12- LOX και ως εκ τούτου συνθέτουν μόνο το 12- HPETE, ενώ τα λευκοκύτταρα έχουν και τη 12- LOX και τη 5-LOX και συνθέτουν τα αντίστοιχα HPETEs. Τα ασταθή HPETEs με τη δράση είτε της υπεροξειδάσης είτε μη ενζυματικά μετατρέπονται στα αντίστοιχα υδροξυλιπαρά οξέα (HETEs).

Η 5- LOX είναι και η πλέον ενδιαφέρουσα, γιατί οδηγεί στη σύνθεση των λευκοτριενών (LTs). Σε αντίθεση με την COX-2, η 5-LOX εκφράζεται μόνο σε έναν περιορισμένο αριθμό κυττάρων, θα μπορούσε να λεχθεί κυρίως στα λευκοκύτταρα. Όταν ενεργοποιούνται τα κύτταρα και αυξάνει το ενδοκυττάριο  $Ca^{2+}$ , τότε η 5-LOX συνδέεται με την πρωτεΐνη FLAP (FL Activating Protein) που ενεργοποιεί το ένζυμο αυτό. Η ενεργοποιημένη πλέον 5-LOX έρχεται και συνδέεται με την κυτταρική μεμβράνη και προάγει, όπως προαναφέρθηκε, τη σύνθεση του 5-HPETE. Αυτό με τη δράση της συνθετάσης των λευκοτριενών A (LTA synthase) σε συνδυασμό με τη 5-LOX υφίσταται μία αναδιάρθρωση και δίνει ένα ασταθές 5,6 εποξείδιο, το οποίο ονομάζεται λευκοτριένη A4 (LTA<sub>4</sub>) και αντιπροσωπεύει το κυριότερο προϊόν που προέρχεται από την ενεργοποίηση της 5-LOX. Ο μεταβολισμός της LTA<sub>4</sub> από



**Εικόνα 4.11: Σχηματική παράσταση του μεταβολισμού του αραχιδονικού προς λευκοτριένες.** Στα λευκοκύτταρα, η LTA<sub>4</sub> μετατρέπεται σε LBA<sub>4</sub> από την υδρολάση της LTA<sub>4</sub> ή σε κυστινυλο-λευκοτριένες (cysLTs) LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, και LTE<sub>4</sub> με τη δράση των γλουταθειονικών-S-τρανσφερασών που ευρίσκεται στα πλησιέστερα ευρισκόμενα αιμοπετάλια και ενδοθηλιακά κύτταρα. Πλήρης ανάπτυξη στο κείμενο.

*Cur. Opin. Lipidol. 14:447-467 (2003)*

την υδρολάση LTA οδηγεί στο σχηματισμό της λευκοτριένης B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>), η οποία δρα ως χημειοτακτικός παράγοντας κατά την εξέλιξη της φλεγμονής. Παράλληλα, τα λευκοκύτταρα μεταφέρουν τη LTA<sub>4</sub> προς τα αιμοπετάλια και τα ενδοθηλιακά κύτταρα που διαθέτουν τη συνθετάση της λευκοτριένης C<sub>4</sub>. Ο μεταβολισμός της LTA<sub>4</sub> από τη συνθετάση της λευκοτριένης C<sub>4</sub> οδηγεί στη σύνθεση αρχικά της LTC<sub>4</sub> και στη συνέχεια των κυστινυλο-λευκοτριενών (cysLTs) LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub> και LTF<sub>4</sub> (23,25).

Οι λευκοτριένες LTC<sub>4</sub> και LTD<sub>4</sub> φαίνεται ότι δρουν στα μετατριχοειδή φλεβίδια και προάγουν την έξοδο του πλάσματος κατά τρόπο χίλιες φορές ισχυρότερο από εκείνο της ισταμίνης. Δρουν ως αγωνιστές των υποδοχέων cysLT<sub>1</sub> και cysLT<sub>2</sub>. Οι υποδοχείς αυτοί είναι επταδιαμεμβρανικοί, συνδέονται με πρωτεΐνη G και η διέγερσή τους οδηγεί σε αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάρου Ca<sup>2+</sup>. Επίσης οι λευκοτριένες LTD<sub>4</sub> και LTF<sub>4</sub> θεωρείται σήμερα ότι αποτελούν τη βάση αυτού του παράγοντα που ονομάζεται βραδέως αντιδρώσα ουσία της αναφυλαξίας (SRS-A: Slow Reacting Substance of Anaphylaxis) (23).

Υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι η 5-LOX συμβάλλει στην εξέλιξη της αθηρωμάτωσης, μίας τυπικής χρόνιας φλεγμονής, δρώντας σε διάφορα στάδια όπως στην έναρξη της βλάβης, στην αύξηση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων εντός της αθηρωματώδους αλλοίωσης και στην αποσταθεροποίηση των αθηρωματικών πλακών που μπορεί να οδηγήσει στη ρήξη τους (57).

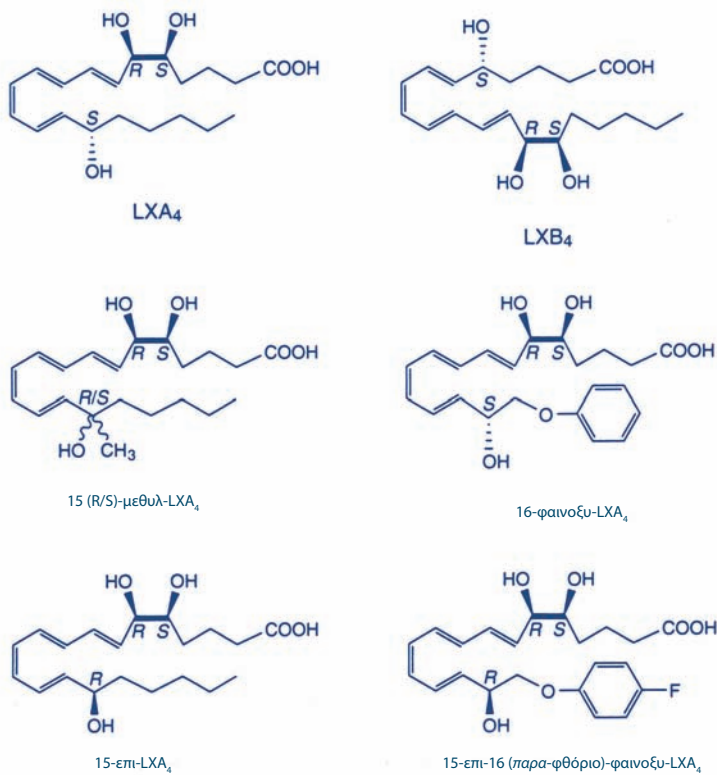
### **Λιποξίνες**

Οι λιποξίνες (LXs) είναι ενδογενή εικοσανοειδή προϊόντα τα οποία σχηματίζονται κατά την αντίδραση κυττάρου προς κύτταρο. Συντίθενται με τη δράση των 15 και 5 ή των 5 και 12 λιποξυγενασών στο αραχιδονικό οξύ. Στα θηλαστικά εντοπίζονται οι μορφές LXA και LXB. Η παρουσία τους έχει εντοπισθεί σε διάφορες φλεγμονώδεις παθήσεις όπως το βρογχικό άσθμα, η σπειραματονεφρίτιδα και η ρευματοειδής αρθρίτιδα (58,59).

Η ATL (Aspirin Triggered Lipoxin), μία ιδιαίτερα δραστική λιποξίνη, είναι το επιμερές του C-15 της LXA<sub>4</sub> και για τη σύνθεσή της χρειάζονται δύο ένζυμα. Το ένα είναι η COX-2 που συνθέτει το 15 (R)-HETE και το άλλο είναι η 5-LOX που μετατρέπει το 15 (R)-HETE σε ATL. Η πρώτη αντίδραση γίνεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα που διαθέτουν την COX-2 και η δεύτερη στα ουδετερόφιλα που διαθέτουν την 5-LOX (59).

Οι LXs δρουν ανασταλτικά στη χημειοταξία των ουδετερόφιλων και ηωσινόφιλων πολυμορφοκυττάρων που προκαλείται από τις λευκοτριένες, στη σύνθεση των οξειδωτικών ριζών από τα πρώτα και στην έκκριση της IL-5 και της εοταξίνης από τα δεύτερα. Αναστέλλουν την κινητοποίηση των P-σελε-





**Εικόνα 4.12: Χημικοί τύποι των λιποξινών.** Η 15-επι-LXA<sub>4</sub> αποτελεί προϊόν δράσης της ασπιρίνης μέσα από τον βιοχημικό καταρράκτη του αραχιδονικού οξέος. *Trends Pharmacol. Sci.* 22: 391-395 (2001)

κτινών του ενδοθηλίου και εξασθενούν την έκφραση του CD11/CD18. Διεγείρουν τη χημειοταξία και προσκόλληση των μονοκυττάρων καθώς και την επιτελούμενη από τα μακροφάγα κάθαρση των αποπτωτικών πολυμορφοπύρηνων από τις φλεγμονώδεις εστίες. Αναστέλλουν την από την IL-1 σύνθεση και απελευθέρωση της IL-6 και της IL-8 από τα ιστιοκύτταρα. Επίσης ρυθμίζουν τη διέγερση των μεταλλοπρωτεϊνών από τις κυτταροκίνες και αναστέλλουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Ειδικότερα, η σύνθεση της ATL από την ασπιρίνη φαίνεται ότι ασκεί αντιρροπιστικά προστατευτικό ρόλο στην προστασία του γαστρικού βλεννογόνου, δεδομένου ότι η ασπιρίνη μέσω της ανασταλτικής δράσης στις COX-1 και COX-2 αναστέλλει τη σύνθεση και των προστατευτικών του βλεννογόνου προσταγλανδινών (58,59).

### **Κλάσματα C3a και C5a από την ενεργοποίηση του συμπληρώματος**

Τα C3a και C5a μόρια αποτελούν κλάσματα που προέρχονται από την ενεργοποίηση του συμπληρώματος. Τα C3a και C5a κλάσματα αποτελούν το υπόστρωμα δράσης της καλλικρεΐνης, για την οποία έγινε αναφορά κατά την ανάπτυξη της βραδυκινίνης καθώς και για το ρόλο της τελευταίας στα φαινόμενα αγγειοδιαστολής και διαπίδυσης.

Επίσης, ένα τμήμα που προέρχεται από σχάση του συμπληρώματος και χαρακτηρίζεται ως το C3b, εκτός του ότι δρα σαν οψωνίνη, είναι απαραίτητο για την ενεργοποίηση των κλασμάτων C5 και C9 του πέρατος του συμπληρώματος. Μεταξύ άλλων, το C3b ενώνεται με την ιντεγκρίνη CD11β/CD18 των λευκοκυττάρων.

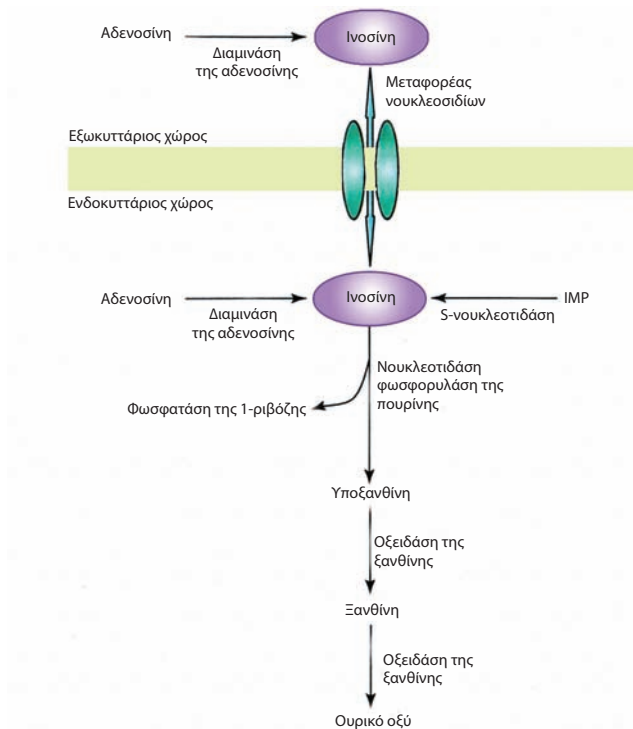
## **ΑΓΓΕΙΟΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΜΕ ΕΥΡΥΤΕΡΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ**

### **Αδενοσίνη και ινοσίνη**

Η αδενοσίνη και η ινοσίνη, η οποία είναι το κύριο προϊόν διάσπασης της αδενοσίνης, είναι μόρια χαμηλού M.B. τα οποία διεγείρουν την ανάπτυξη ενδοκυττάρου βιοχημικού σήματος και συμμετέχουν σε πολλές κυτταρικές λειτουργίες. Ενώ η εξωκυττάρια συγκέντρωσή τους είναι ιδιαίτερα χαμηλή, αυξάνει κατακόρυφα σε συνθήκες μεταβολικού στρες, όπως επί τραυματισμού, ισχαιμίας και φλεγμονής (60).

Η αδενοσίνη έχει αγγειοδιασταλτικές δράσεις, διότι διεγείρει τους  $A_{2A}$  υποδοχείς της στις λείες μυϊκές ίνες του αγγειακού τοιχώματος προάγοντας τη χάλαση αυτών. Αντίθετα, η ινοσίνη είναι αγγειοσυσπαστική ουσία. Η δράση αυτή οφείλεται στην από κοινού με την αδενοσίνη διέγερση των  $A_3$  υποδοχέων της τελευταίας στα πέριξ των αγγείων σιτευτικά κύτταρα και στην απελευθέρωση από αυτά της ισταμίνης που προάγει τη σύσπαση των λείων μυϊκών ινών των αγγείων. Αντίθετα, η αδενοσίνη που διεγείρει τους  $A_{2A}$  στα σιτευτικά κύτταρα αναστέλλει την αποκοκκίωσή τους (60).

Η ινοσίνη θεωρείται, επίσης, ως ένας δυνητικός ανοσορρυθμιστικός και νευροπροστατευτικός παράγοντας. Η ινοσίνη επιτείνει την αποκοκκίωση των σιτευτικών κυττάρων, εξασθενεί τη σύνθεση των φλεγμονογόνων κυτταροκινών από τα μακροφάγα, τα λεμφοκύτταρα και τα ουδετερόφιλα, ανταγωνίζεται τους λιποπολυσακχαρίδες των μικροβίων που δρουν ως ισχυρά αντιγόνα και δρα προφυλακτικά σε σηπτικές καταστάσεις και στην ισχαιμία-επαισιμότητα, ενώ εξασθενεί την αυτοάνοσο αντίδραση. Η εξωκυττάρια ινοσίνη εισέρχεται στο κύτταρο μέσω μεταφορέων νουκλεοσιδίων και υπάρχει ανταγωνισμός για την κατάληψη των θέσεων αυτών με την αδενοσίνη. Οι αντιφλεγμονώδεις, όμως, δράσεις της ασκούνται στην κυτταρική μεμβράνη, χωρίς να χρειάζεται η είσοδος της στο κύτταρο (60).



**Εικόνα 4.13: Μεταβολισμός της ινοσίνης.** Εξωκυττάριος και ενδοκυττάριος μεταβολισμός της αδενοσίνης προς ινοσίνη. Μηχανισμός εισόδου της ινοσίνης στο κύτταρο και ενδοκυττάριος μεταβολισμός της.

*Trends Pharmacological Sci. 25 (2004)*

Οι δράσεις της ινοσίνης ασκούνται τόσο μέσω των υποδοχέων της αδενοσίνης όσο και μέσω βιοχημικών οδών ανεξάρτητων των υποδοχέων όπως στο επίπεδο της πολύ (ριβόζο-ADP) πολυμεράσης και σε κυτταρικά ενεργειακά επίπεδα. Οι υποδοχείς  $A_{2A}$  ευαισθητοποιούνται από τη φλεγμονώδη ιστική βλάβη και προάγουν αντιφλεγμονώδη σήματα (60).

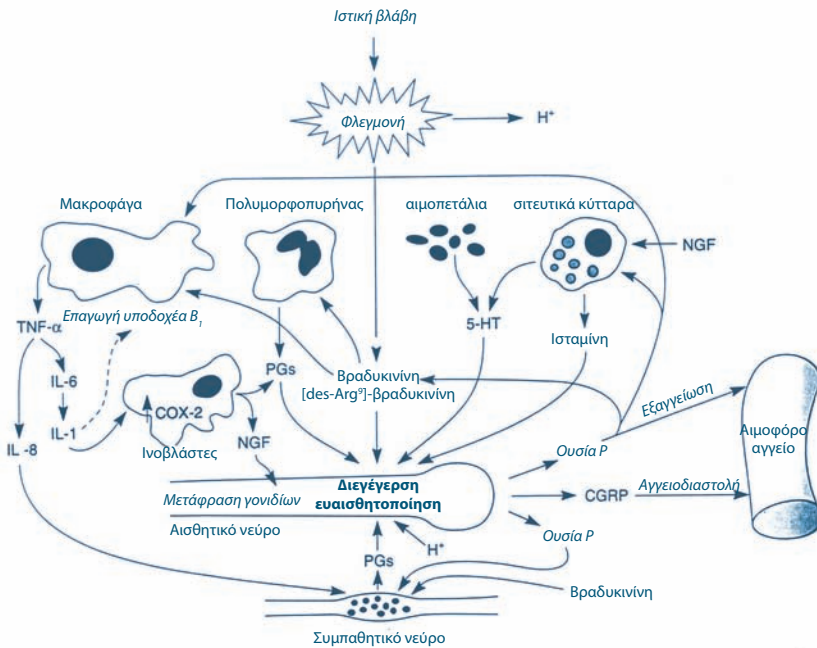
## ΑΓΓΕΙΟΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΚΑΙ ΠΟΝΟΣ

Η βραδυκινίνη και οι προσταγλανδίνες  $PGE_2$  και  $PGF_{2\alpha}$  που απελευθερώνονται από τις φλεγμονογόνες κυτταροκίνες φαίνεται ότι έχουν τον κυριότερο ρόλο στην ανάπτυξη των μηχανισμών του πόνου. Η ικανότητα των προσταγλανδινών να ευαισθητοποιούν τους υποδοχείς του πόνου φαίνεται ότι οφείλεται στην ικανότητά τους να ελαττώνουν τον ουδό ευαισθησίας στις

απολήξεις των ινών C. Παράλληλα στους όλους μηχανισμούς φαίνεται ότι συμβάλλουν διάφορα νευροπεπτίδια όπως η ουσία P και το πεπτίδιο που σχετίζεται με το γονίδιο της καλκιτονίνης. Αντίθετα, το νευροπεπτίδιο Υ φαίνεται ότι ασκεί ανασταλτικό ρόλο στους μηχανισμούς εμφάνισης του πόνου (17,61).

### Βραδυκινίνη

Η βραδυκινίνη θεωρείται βασικός παράγοντας εμφάνισης του πόνου. Ο οξύς πόνος αποδίδεται στους  $B_2$ -υποδοχείς, ενώ στη χρόνια φλεγμονή φαίνεται να σχετίζεται με τους  $B_1$ -υποδοχείς. Η βραδυκινίνη διεγείρει, επίσης, την απελευθέρωση από τις απολήξεις των αισθητικών νευρών ουσιών όπως η νευροκινίνη A, η ουσία P και το πεπτίδιο που σχετίζεται με το γονίδιο της καλσιτονίνης (21,22).



**Εικόνα 4.14: Ορισμένες από τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των προϊόντων των κυττάρων του ανοσιακού συστήματος, των μικροαγγείων και των περιφερικών συμπαθητικών και αισθητικών νευρώνων.** CGRP (Calcitonine gene – related peptide: Πεπτίδιο σχετιζόμενο με το γονίδιο της καλκιτονίνης), COX-2 (Cyclooxygenase-2: Κυκλοοξυγενάση-2), 5-HT (5-hydroxytryptamine: 5-υδροξυτρυπταμίνη), IL-1, IL-6, IL-8 (Interleukins: Ιντελευκίνες), NGF (Nerve Growth Factor: Αυξητικός των Νευρών Παράγοντας), Pgs (Prostaglandins: Προσταγλανδίνες), TNF-α (Tumor Necrosis Factor-α: Νεκρωτικός των Όγκων Παράγοντας-α)

*Trends Pharmacol. Sci.* 14:287-291 (1993)

Η βραδυκινίνη επηρεάζει θετικά και τη διέγερση των βαλινοειδών υποδοχέων. Συγκεκριμένα, ο βαλινοειδής υποδοχέας-1 (VR1) είναι μια πρωτεΐνη που περιέχει δίαυλο ιόντων, αποτελεί μέλος της οικογένειας των υποδοχέων παροδικού δυναμικού (TRP: Transient Receptor Potential), απαντά στις νευρικές απολήξεις του πόνου και προάγει τη μεταφορά του επώδυνου ερεθίσματος. Διάφορα επώδυνα ερεθίσματα όπως εξωκυττάρια πρωτόνια, παράγωγα του αραχιδονικού οξέος, θερμότητα και η καψαΐνη, ενεργοποιούν τον υποδοχέα αυτό. Πολλά μέλη των TRP ρυθμίζονται από βιοχημικά σήματα που εξαρτώνται από την PLC ύστερα από τη διέγερση υποδοχέων που συνδέονται με G-πρωτεΐνη ή υποδοχέων τυροσινικής κινάσης. Έχει αποδειχθεί ότι ουσίες που εμφανίζονται μετά τον ιστικό τραυματισμό, όπως η βραδυκινίνη που διεγείρει υποδοχείς συνδεδεμένους με G-πρωτεΐνη και ο αυξητικός των νευρών παράγοντας (NGF: Nerve Growth Factor) που διεγείρει τυροσινικούς υποδοχείς, διεγείρουν και τους υποδοχείς VR1 (62).

Οι ουσίες αυτές διεγείρουν κατ' αρχήν μέσω των υποδοχέων τους την PLC η οποία υδρολύει τη διφωσφορική φωσφατιδυλο 1,4 ινοσιτόλη (Ptdins4,5P<sub>2</sub>; Phosphatidylinositol 4,5-biphosphate) προς τους δεύτερους αγγελιαφόρους διακυλογλυκερόλη (DAG:1,2-diacylglycerol) και 1,4,5 τριφωσφορική ινοσιτόλη (Ins1,4,5P<sub>3</sub>). Η Ptdins4,5P<sub>2</sub> καταστέλλει με τη σειρά της τη δράση των υποδοχέων-VR1 και αυτός είναι ένας αντιρροπιστικός μηχανισμός (62).

### **Νευροπεπτίδιο Υ**

Το νευροπεπτίδιο Υ αποτελείται από 36 αμινοξέα και απαντά εκτεταμένα τόσο στο κεντρικό όσο και στο περιφερικό Νευρικό Σύστημα (Ν.Σ) αλλά και σε διάφορα σημεία του Αυτόνομου Νευρικού Συστήματος (ΑΝΣ). Ασκει τις ενέργειές του μέσα από έξι υποτύπους υποδοχέων, τους Υ<sub>1-6</sub>. Το πεπτίδιο αυτό έχει αγγειοσυσπαστικές ενέργειες πιθανόν μέσα από την απελευθέρωση της βασοπρεσίνης και είναι γνωστό ότι έχει αντιφλεγμονώδεις δράσεις στο περιφερικό Ν. Σ. και αναλγητική δράση στο ΚΝΣ. Πρόσφατες ενδείξεις ομιλούν για αναλγητική δράση μέσω των υποδοχέων-Υ<sub>1</sub> στο επίπεδο του νωτιαίου μυελού και πυροδότηση της νευρικής φλεγμονής από τους ίδιους υποδοχείς-Υ<sub>1</sub> σε περιφερικό επίπεδο. Εκ πρώτης όψης, οι ενέργειες αυτές φαίνονται αντικρουόμενες. Πρόκειται για ένα θέμα το οποίο διερευνάται (61).

### **ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΕΙΣ**

Η φλεγμονή είναι ένα φυσιολογικό φαινόμενο και ως εκ τούτου οι παρεμβάσεις θα πρέπει να στοχεύουν στο να μετριάσουν τα φαινόμενα που τη

συνοδεύουν, όπως ο πυρετός και ο πόνος. Ειδικότερα οι φαρμακολογικές παρεμβάσεις στοχεύουν να θέσουν υπό έλεγχο τη φλεγμονώδη αντίδραση είτε σε ακραίες περιπτώσεις της οξείας φλεγμονής, όπως είναι η σηψαιμική καταπληξία, είτε σε χρόνιες και αυτοάνοσες φλεγμονές όπου η ανοσιακή απόκριση συνεχώς ανακυκλώνεται και δημιουργείται ένας φαύλος κύκλος.

### **Αναστολείς των βιοχημικών οδών του αραχιδονικού οξέος**

Οι βιοχημικές οδοί σύνθεσης των PGs καθώς και οι επι μέρους υποδοχείς αυτών αποτελούν πάντοτε στόχους για φαρμακολογικές παρεμβάσεις. Τα πλέον κλασικά φάρμακα της κατηγορίας αυτής είναι τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ), τα οποία διακρίνονται σε επί μέρους κατηγορίες (36).

Όλοι είναι αναστολείς της COX· άσχετα με την εκλεκτικότητα την οποία έχουν συνδέονται στο μόριο της κυκλοοξυγενάσης με τη θέση σύνδεσης του αραχιδονικού οξέος. Τόσο το αραχιδονικό οξύ όσο και τα ΜΣΑΦ που έχουν καρβοξύλιο δημιουργούν ζεύγος με τη γουανιδινοομάδα της αργινίνης 120. Η αργινίνη 120 αποτελεί το μόνο θετικά φορτισμένο αμινοξύ στην περιοχή σύνδεσης του αραχιδονικού οξέος στον δίαυλο του μορίου της COX (13,35).

Τα ΜΣΑΦ έρχονται και πληρούν το δίαυλο αυτό και εμποδίζουν το αραχιδονικό οξύ να εισέλθει. Η σύνδεση όλων των αναστολέων με την COX γίνεται σε δύο φάσεις. Σε πρώτη φάση, ο αναστολέας ενώνεται κατά τρόπο αντιστρεπτό με το ένζυμο και σχηματίζει ένα μη σταθερό σύμπλοκο που αντιπροσωπεύει ένα συναγωνιστικά ανεσταλμένο ένζυμο. Σε μία δεύτερη φάση που διαρκεί από κάποια δευτερόλεπτα έως μερικά λεπτά, το φάρμακο αναστολέας ενώνεται με πιο ισχυρό δεσμό με το ένζυμο, σηματοδοτώντας την έναρξη μετασχηματισμού της ενζυμικής πρωτεΐνης (13-16,28,31).

Τα φάρμακα που αναστέλλουν τη δράση της COX διακρίνονται σε δύο κατηγορίες. Η πρώτη κατηγορία αφορά φάρμακα που δρουν ως μη εκλεκτικοί αναστολείς της COX. Εδώ υπάγονται οι διάφορες κατηγορίες των πρώτης γενιάς ΜΣΑΦ. Οι κυριότερες κατηγορίες των φαρμάκων αυτών είναι τα παράγωγα του ακετυλοσαλικυλικού οξέος, τα παράγωγα του προπιονικού οξέος, τα παράγωγα της ινδόλης και τα παράγωγα της πυραζολόνης. Υπάρχουν τουλάχιστον τέσσερις διαφορετικοί μηχανισμοί με τους οποίους δρουν τα παράγωγα αυτά. Το ακετυλοσαλικυλικό οξύ είναι το μόνο που με ομοιοπολικό δεσμό τροποποιεί τα αμινοξέα στο δίαυλο και αδρανοποιεί κατά μη αντιστρεπτό τρόπο τόσο την COX-1 όσο και την COX-2 (13-16,28).

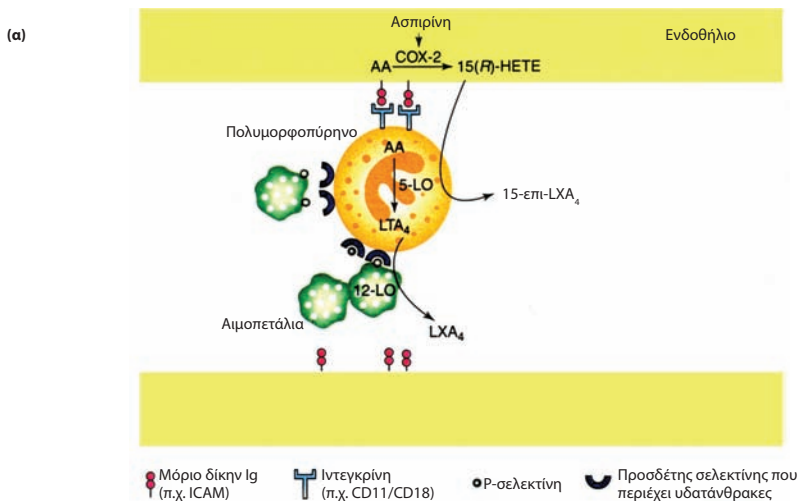
Στη δεύτερη κατηγορία ανήκουν οι εκλεκτικοί αναστολείς της COX-2 όπως η ροφεκοξίβη και η σελεκοξίβη. Πρόκειται για τη δεύτερη γενιά φαρμάκων. Εκείνο όμως που προσδιορίζει την εκλεκτικότητα μιας ουσίας με την

COX-2 είναι αναμφίβολα η μοριακή δομή της τελευταίας και η συγγένεια που έχει προς το μόριο του συγκεκριμένου ισόμορφου ενζύμου. Όλοι οι αναστολείς της COX-2 συμμετέχουν στην πρώτη φάση αδρανοποίησης τόσο της COX-1 όσο και της COX-2 με συναγωνιστική συμπεριφορά. Η εκλεκτικότητα τους, όμως, ως προς την COX-2 είναι χρονοεξαρτώμενη και αφορά τη δεύτερη φάση. Ένα άλλο σημείο που καθορίζει την εκλεκτικότητα ως προς την COX-2 είναι και ο χρόνος αποσύνδεσης, σύντομος για την COX-1 και βραδύς για την COX-2. Η ανασταλτική δράση στην COX-2 αφήνει μεγαλύτερη ποσότητα αραχιδονικού οξέος να μεταβολισθεί προς EETs, ουσίες των οποίων οι αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες ήδη αναπτύχθηκαν (13,35,63).

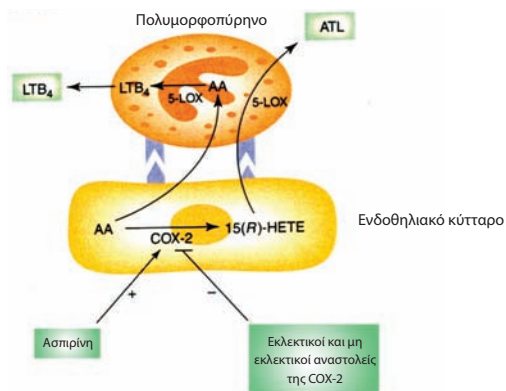
Οι εκλεκτικοί αναστολείς της COX-2 θα μπορούσαν να βοηθήσουν στη θεραπεία των χρόνιων φλεγμονωδών παθήσεων όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα, ιδιαίτερα στους ασθενείς που έχουν επιπρόσθετο καρδιακό κίνδυνο λόγω των ανασταλτικών ενεργειών τους στην αλληλεπίδραση αιμοπεταλίων-λευκοκυττάρων. Από πολλούς, επίσης, συζητείται η συνδυασμένη χορήγηση ασπιρίνης και αναστολέων της COX-2 για την καταστολή του φλεγμονώδους παράγοντα ο οποίος συμβάλλει στους μηχανισμούς ανάπτυξης της αθηρωμάτωσης, δεδομένου ότι η ασπιρίνη αναστέλλει μεν τη διέγερση των αιμοπεταλίων και τον κίνδυνο θρόμβωσης, πλην όμως από μόνη της αδυνατεί να αναστείλει τις αλληλεπιδράσεις αιμοπεταλίων και λευκοκυττάρων. Οι πρόσφατες παρατηρήσεις για ανεπιθύμητες ενέργειες των αναστολέων της COX-2 στο καρδιαγγειακό σύστημα και η απόσυρση ορισμένων σκευασμάτων έχουν δημιουργήσει έντονο προβληματισμό για το μέλλον των ουσιών αυτών (25).

Έχει διαπιστωθεί και έχει ήδη αναφερθεί ότι η ασπιρίνη με την ακετυλίωση που προκαλεί στην COX-2, εκτός από την αναστολή της σύνθεσης των προστανοειδών από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, προάγει συγχρόνως σε περιβάλλον κυτταροκινών τη σύνθεση του HETE από το αραχιδονικό οξύ. Προϊόντα του HETE σχετίζονται με το άσθμα που πυροδοτείται από ασπιρίνη. Από την άλλη μεριά, το HETE μετατρέπεται από την 5-λιπooξυγενάση των πολυμορφοπύρηνων σε 15-επι-LXA<sub>4</sub> και 15-επι-LXB<sub>4</sub>. Αυτές οι LXs που δημιουργούνται από την αντιφλεγμονώδη ασπιρίνη και ονομάζονται ATLS (Aspirin Triggered Lipoxins) είναι ενδογενή εναντιομερή των LXA<sub>4</sub> και LXB<sub>4</sub>. Τόσο οι LXs όσο και οι ATLS, για τις οποίες έχει γίνει ήδη αναφορά, μεταβολίζονται ταχέως, πλην όμως τα μεταβολικά προϊόντα τους είναι εξ ίσου δραστικά αντιφλεγμονώδη. Φαίνεται ότι η ασπιρίνη σε περιβάλλον φλεγμονής όπου επάγεται η COX-2 έχει και αυτή την αντιφλεγμονώδη ενέργεια (58,59).

Για τη LXA<sub>4</sub> έχει εξακριβωθεί η ύπαρξη του αντίστοιχου υποδοχέα της στα κύτταρα στόχους. Πρόκειται για υποδοχέα που ανήκει στην υπεροικογένεια των ροδοψινών και συνδέεται με G- πρωτεΐνη. Ο υποδοχέας αυτός



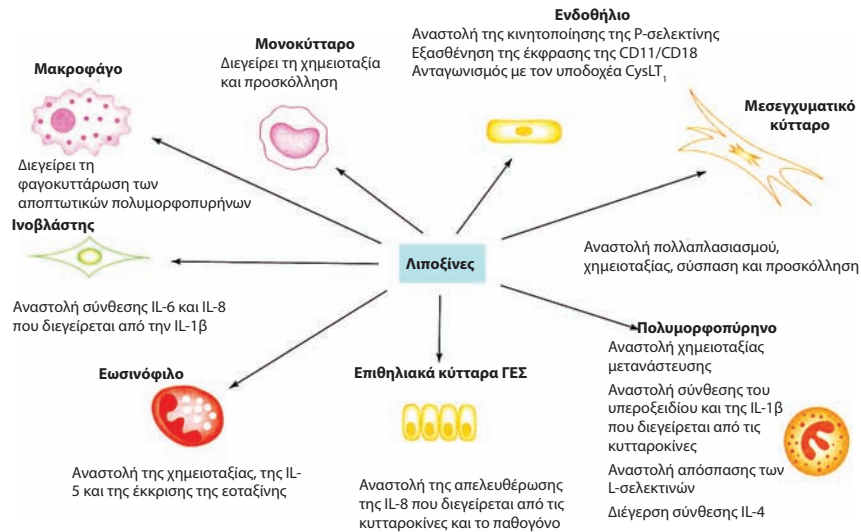
(β)



**Εικόνα 4.15: Σχηματική παράσταση που αφορά τη σύνθεση της λιποξίνης LXA<sub>4</sub> και της 15-επι-LXA<sub>4</sub>.** (α) Η P-σελεκτίνη προάγει την αλληλεπίδραση των πολυμορφοπύρρηνων λευκοκυττάρων με τα ενδοθηλιακά. Κατά τις αλληλεπιδράσεις αυτές το αραχιδονικό οξύ (AA: Arachidonic Acid) και τα μεταβολικά προϊόντα του μεταφέρονται από κύτταρο σε κύτταρο, όπου υπόκεινται σε περαιτέρω μεταβολισμό. Τα πολυμορφοπύρρηνα εκφράζουν την 5-λιποοξυγενάση (5-LO ή LOX), όχι όμως και τα αιμοπετάλια και τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Κατά τη διάρκεια των αλληλεπιδράσεων των αιμοπεταλίων με τα πολυμορφοπύρρηνα, το AA μεταβολίζεται στα μεν πολυμορφοπύρρηνα υπό την επίδραση της 5-LO προς LTA<sub>4</sub>, στα δε αιμοπετάλια η LTA<sub>4</sub> μετατρέπεται προς LXA<sub>4</sub> υπό την επίδραση 12-LO. Η ασπιρίνη με την ακετυλίωση που προκαλεί στην COX-2, εκτός από την αναστολή της σύνθεσης των προστανοειδών από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, συγχρόνως σε περιβάλλον κυτταροκινών προάγει τη σύνθεση του HETE από το AA. Το τελευταίο απελευθερώνεται και μετατρέπεται από τα κύτταρα της φλεγμονής σε 15-επι-LXA<sub>4</sub> ή ATL (Aspirin Triggered Lipoxin). (β) Ανάλογη σχηματική παράσταση που δείχνει τον διεγερτικό ρόλο της ασπιρίνης και τον κατασταλτικό ρόλο των αναστολέων της COX-2 στη σύνθεση της προστατευτικής ATL, με αποτέλεσμα να ευνοείται η σύνθεση των λευκοτριενών (LTA<sub>4</sub>).

*Trends Pharmacol. Sci.* 22: 391-395 (2001) και 24:323-326 (2003)



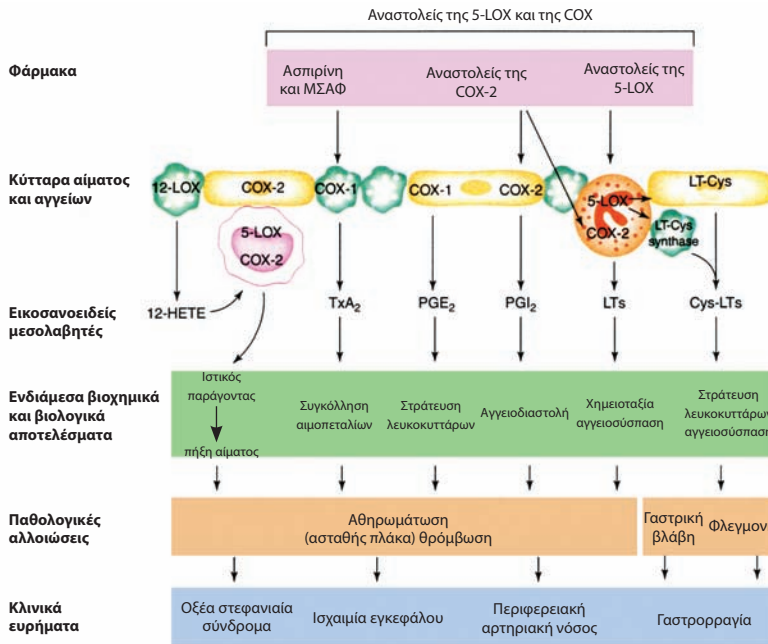


**Εικόνα 4.16: Σχηματική παράσταση των κυριότερων βιολογικών ενεργειών των λιποξινών (LXs) και των LXs που δημιουργούνται από την ασπιρίνη και ονομάζονται ATLS (Aspirin Triggered Lipoxins).** Οι LXs αναστέλλουν τη διέγερση των ουδετερόφιλων πολυμορφοκυττάρων λευκοκυττάρων και των ηωσινοφίλων και προάγουν την κάθαρση των αποπτωτικών λευκοκυττάρων από τα μακροφάγα στην περιοχή της φλεγμονής. Επίσης οι LXs μεταβάλουν την έκφραση των κυτταροκινών και των μορίων προσκόλλησης επηρεάζοντας με τον τρόπο αυτό την πορεία των λευκοκυττάρων.

*Trends Pharmacol. Sci. 22: 391-395 (2001)*

εμφανίζεται με διάφορους υποτύπους στα διάφορα κύτταρα στόχους και φαίνεται ότι, εκτός των άλλων, έχει δράση και ως πυρηνικός υποδοχέας. Το όλο δίκτυο το οποίο μεθοδεύεται από τις LXs αποτελεί σήμερα έναν ελκυστικό στόχο μελέτης και σύνθεσης αντιφλεγμονωδών φαρμάκων. Σταθερά αναλογικά προϊόντα των LXs πιστεύεται ότι μπορεί να δώσουν θετικά αποτελέσματα σε φλεγμονώδεις παθήσεις ιδιαίτερα του πεπτικού, όπως η ελκώδης κολίτιδα και η νόσος του Crohn, και όχι μόνο (58,59).

Σε φάση έρευνας υπάρχουν διάφορα προϊόντα τα οποία δρουν ως αναστολείς τόσο της COX όσο και της 5-LOX με στόχο να αναστείλουν, μεταξύ άλλων, και τα φλεγμονώδη στοιχεία που συνυπάρχουν με την αθηρωματική διαδικασία. Ο συνδυασμός των δύο αυτών στόχων επιδιώκει μέσα από την αδρανοποίηση της COX-1 την αναστολή της σύνθεσης της TXA<sub>2</sub>, μέσα από την αδρανοποίηση της COX-2 την υποβάθμιση της διέγερσης των λευκοκυττάρων και κατ' επέκταση των φλεγμονωδών φαινομένων και μέσα από την αδρανοποίηση της 5-LOX την περαιτέρω εκλεκτική αναστολή της φλεγμονώδους και θρομβογόνου δυναμικής των λευκοκυττάρων. Αυτό θα έχει



**Εικόνα 4.17:** Σχηματική παράσταση της δράσης των διαφόρων αναστολέων των COXs (Cyclooxygenases) και της 5-LOX (5-Lipoxygenase). Παρουσιάζονται τα επί μέρους ένζυμα τα οποία αποτελούν στόχους των φαρμάκων αυτών, τα προϊόντα της καταλυτικής δράσης των ενζύμων αυτών τα οποία ανήκουν στα εικοσανοειδή, οι επί μέρους βιολογικές δράσεις των τελευταίων σε μοριακό και παθολογοανατομικό επίπεδο και οι κλινικές συνέπειες αυτών. Λεπτομέρειες αναπτύσσονται στο κείμενο.

*Trends Pharmacol. Sci.* 24: 245-252 (2003)

Ιδιαίτερη σημασία για τους ασθενείς αυτούς που παρουσιάζουν αντίσταση στην αντιαιμοπεταλιακή δράση της ασπιρίνης. Ένα μάλιστα από αυτά, η λικοφελόνη, έχει προχωρήσει και στη φάση III των κλινικών δοκιμασιών για περιπτώσεις οστεοαρθρίτιδας. Η ουσία αυτή αναστέλλει, μεταξύ άλλων, και την έκφραση του επιφανειακού μορίου Mac-1 στα ουδετερόφιλα και κατά συνέπεια τη σύζευξη ουδετεροφίλων και αιμοπεταλίων και τη διακυτταρική σύνθεση της LTC<sub>4</sub> (25).

### **Οι υποδοχείς και οι μεταβιβαστικές ουσίες ως στόχος**

Με βάση όσα αναφέρθηκαν προηγουμένως, οι B<sub>1</sub>- υποδοχείς της βραδυκινίνης θεωρούνται φαρμακολογικός στόχος για τη σύνθεση νέων αντιφλεγμονωδών φαρμάκων. Επίσης, η Ptdins4,5P<sub>2</sub> της οποίας ο ανασταλτικός ρόλος στη διέγερση των υποδοχέων-VR1 αναπτύχθηκε ήδη, αποτελεί σήμερα μία χρήσιμη οδηγό ουσία για την ανάπτυξη νέων αναλγητικών φαρμάκων. Δεν

πρέπει να λησμονείται ότι ο πόνος είναι άμεσα συνδεδεμένος με τη φλεγμονή (62).

Η ινοσίνη χρησιμοποιήθηκε σποραδικά για την αντιμετώπιση διαφόρων καρδιαγγειακών διαταραχών, συμπεριλαμβανόμενων των ισχαιμικών επεισοδίων. Επίσης, έχει πρόσφατα χρησιμοποιηθεί σε μικρό αριθμό ασθενών που πάσχουν από πολλαπλή σκλήρυνση. Με βάση τις αυξανόμενες ενδείξεις και αναφορές, θα πρέπει να αναθεωρηθεί η θεραπευτική αξία της σε περιπτώσεις ισχαιμίας, φλεγμονής και αυτοάνοσων καταστάσεων (60).

### **Το οξειδιο του αζώτου ως στόχος**

Ο ανασταλτικός ρόλος του NO στην ανάπτυξη της φλεγμονής αναπτύχθηκε ήδη επαρκώς. Το ίδιο όμως εξηγήθηκαν και οι κίνδυνοι από το σχηματισμό του υπεροξυνιτρώδους που αναστρέφει την προστασία αυτήν και τη μετατρέπει σε απειλή. Μέχρι στιγμής δεν έχει απαντηθεί το ερώτημα αν σε περιπτώσεις φλεγμονής θα πρέπει να χορηγούνται φάρμακα που προάγουν τη σύνθεση και απελευθέρωση του NO ή φαρμάκων που να αναστέλλουν τη σύνθεσή του.

Τα φάρμακα που φιλοδοξούν να αναστείλουν τη δράση του NO διακρίνονται σε εκείνα που θα μπορούν να επηρεάζουν τη σύνθεσή του και σε εκείνα που επηρεάζουν βιοχημικές οδούς που πυροδοτούνται από το NO.

Οι επιχειρούμενες φαρμακολογικές παρεμβάσεις στη σύνθεση του NO μπορεί να αφορούν τη γονιδιακή μεταγραφή της NOS, την ενεργότητά της αλλά και το ίδιο το συντιθέμενο NO, καθώς και τα προϊόντα του. Η γονιδιακή ρύθμιση της σύνθεσης του NO είναι ένας από τους βασικούς στόχους της έρευνας. Είναι ήδη γνωστό ότι πολλά συστατικά τροφίμων έχουν ανάλογη δράση. Αναφέρονται οι πολυφαινόλες, φλαβονοειδή όπως η επιγαλλοκατεχίνη, βασικό συστατικό του τσαγιού, η καρκουμίνη, δραστικό συστατικό του φυτού *curtusa longa* που χρησιμοποιείται από τους ερυθροδέρμους, η γενιστεΐνη που υπάρχει στη σόγια. Επίσης, στα συστατικά των τροφών ανήκουν και τα ω-3-πολυακόρεστα λιπαρά οξέα εικοσαπενταενοϊκό οξύ και α-λινολενικό οξύ που ευρίσκονται στο λίπος των ψαριών και δρουν ανασταλτικά στην ενεργοποίηση των γονιδίων που κωδικοποιούν την iNOS (37,64,65).

Σήμερα έχει διαπιστωθεί ότι πολλά από τα γνωστά αντιφλεγμονώδη φάρμακα παρεμβαίνουν στους μηχανισμούς που συνδέονται με το NO. Έχει διαπιστωθεί ότι τα σαλικυλικά φάρμακα δρουν ανασταλτικά στη γονιδιακή μεταγραφή της iNOS και ο μηχανισμός αυτός, που είναι ανεξάρτητος από την ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NFκB, αποτελεί ένα κομμάτι του συνόλου των μηχανισμών με τους οποίους οι ουσίες αυτές ασκούν αντιφλεγμονώδη ενέργεια. Επίσης είναι γνωστό ότι η δεξαμεθαζόνη είναι

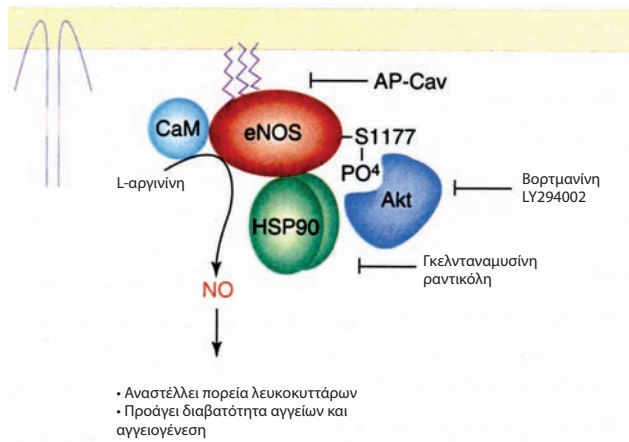
αναστολέας της iNOS τόσο στο επίπεδο της γονιδιακής μεταγραφής όσο και σε επίπεδα μετά από αυτήν. Αντίθετα, πολλά άλλα αντιφλεγμονώδη φάρμακα, όπως τα γλυκοκορτικοειδή, δρουν με μηχανισμό που έχει σχέση με τον μεταγραφικό παράγοντα NFκB. Τα φάρμακα αυτά αυξάνουν την ενεργότητα της πρωτεΐνης IκB, της οποίας ο ρόλος στην απενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NFκB και στην αναστολή σύνθεσης των προφλεγμονωδών στοιχείων αναπτύχθηκε επαρκώς. Με το μηχανισμό αυτό τα φάρμακα αυτά ασκούν αντιφλεγμονώδη ενέργεια (46,48,66).

Οι παρεμβάσεις στο σχηματισθέν ένζυμο αφορούν κυρίως την ενεργότητά του. Στα υπό μελέτη προϊόντα με δράση αναστολέα περιλαμβάνονται απλά αμινοξέα και διπεπτίδια, καθώς και μη πεπτιδικές ενώσεις όπως ισοθειουρίες, ισοσελενουρίες, αμιδίνες, γουανίνες και διάφορα ετεροκυκλικά παράγωγα (64).

Επιθυμητή, επίσης, είναι η σύνθεση ενός εκλεκτικού αναστολέα της iNOS, ώστε να ελαττωθούν κατά ελεγχόμενο τρόπο τα αυξημένα ποσά του NO που συντίθενται κατά τη φλεγμονή, χωρίς να ανασταλεί η σύνθεση του μορίου αυτού που παράγεται από το ενδοθήλιο μέσω της eNOS και ασκεί προστατευτικό ρόλο. Σε φάσεις πειραματικής έρευνας σε ζώα ευρίσκονται διάφορες ουσίες με εκλεκτική δράση αναστολής της iNOS. Σε αυτές περιλαμβάνονται η L-καναβανίνη, η αμινογουανιδίνη, η 1-αμινο-2-υδροξυγουανιδίνη και η S-μεθυλουρία. Οι ουσίες αυτές αναμένεται να μην επηρεάζουν τη δράση της eNOS και ως εκ τούτου την προστατευτική λειτουργία του ενδοθηλίου. Πειραματικά δεδομένα συνηγορούν στο γεγονός ότι ορισμένες από αυτές βελτιώνουν την οξυγόνωση των ιστών με πιθανή δράση και σε μοριακό επίπεδο. Αν τα ευρήματα αυτά επιβεβαιωθούν και στην κλινική πράξη, οι ουσίες αυτές θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν με επιτυχία για την αντιμετώπιση της σηπτικής καταπληξίας όπου υπάρχει πολύ αυξημένη δράση της iNOS (40,67).

Τα πράγματα, όμως, δεν φαίνεται να είναι τόσο απλά. Πειραματικά δεδομένα συνηγορούν στο γεγονός ότι στις χρόνιες φλεγμονές η εκλεκτική αναστολή της iNOS δεν είναι η λύση του προβλήματος και ότι δομικές μορφές του ενζύμου αυτού θα πρέπει επίσης να παίζουν έναν σημαντικό ρόλο στη χρόνια φλεγμονή (68).

Αν και δεν είναι ξεκαθαρισμένος ο ρόλος της eNOS και ο συσχετισμός της με την iNOS κατά την εξέλιξη των φλεγμονωδών φαινομένων, εντούτοις στον ερευνητικό τομέα γίνονται προσπάθειες για την ανεύρεση φαρμάκων που θα περιορίζουν τη δράση της πρώτης. Μεταξύ αυτών που δοκιμάζονται με ενθαρρυντικά αποτελέσματα περιλαμβάνονται η AP-Cav που προέρχεται από το τμήμα του μορίου της ανασταλτικής πρωτεΐνης CAV-1 το οποίο



**Εικόνα 4.18: Σημεία αναστολής της δράσης της eNOS.** Η ενεργοποιηθείσα eNOS αποδεσμεύεται από την καβεολίνη (μωβ) και συνδέεται με την HSP90 (Heat Shock Protein 90: Πρωτεΐνη Θερμικής Καταπληξίας 90) και την καλμοδουλίνη (CaM) και φωσφορυλιούται στη θέση σερίνη 1177. Ένα πεπτιδίο, το AP-Cav, το οποίο προέρχεται από την αλληλουχία της καβεολίνης-1 που συνδέεται με την eNOS, ασκεί αντιφλεγμονώδη ενέργεια *in vivo* και αναστέλλει την αγγειοδιαστολή που προκαλεί το NO *in vitro*. Η γελνταναμυκίνη και η ραντικόλη που συνδέονται με την HSP90 αναστέλλουν επίσης την αγγειοδιαστολή που προκαλεί το NO *in vivo*. Τόσο η βορτμανίνη όσο και το πειραματικό φάρμακο LY294002 αναστέλλουν έμμεσα τη φωσφορυλίωση που εξαρτάται από την akt, διότι αναστέλλουν τη δράση της φωσφατιδυλοκινάσης.  
*Trends Pharmacol. Sci. 24: 91-95 (2003)*

ενώνεται με την eNOS, η γελνταναμυκίνη και η ραντικόλη που συνδέονται με την HSP90 και την εμποδίζουν να ενεργοποιήσει την eNOS, καθώς και η γουορτμανίνη η οποία εμποδίζει τη φωσφορυλιωτική δράση της Akt (49).

Μία δεύτερη κατηγορία φαρμάκων είναι αυτά που δρουν ανασταλτικά στη δράση της NOS. Στην κατηγορία αυτή υπάγονται ουσίες όπως η L-νορ-μομεθυλαργινίνη και ο μεθυλεστέρας της νιτροαργινίνης. Οι ουσίες αυτές ανεβάζουν την αρτηριακή πίεση, γεγονός που είναι επιθυμητό σε καταστάσεις σηψαιμικής καταπληξίας. Η μη εκλεκτικότητά τους, όμως, δημιουργεί προβλήματα όπως η ελάττωση της καρδιακής παροχής και της αιματικής ροής στην περιφέρεια και ο σχηματισμός μικροαγγειακών θρόμβων (40).

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ**

1. Retzinger G., DeAnglis A., Einhans C.: Fibrin(ogen) and inflammation. In: Wellcome to the laboratory of G. Retzinger MD, PhD. *Internet-medicine* (2000)
2. Silbernagl S., Lang F.: Color Atlas of Pathophysiology. George Thieme Verlag, N.York (2000)
3. Haynes B., Fauci A.: Introduction to the immune system. In Braunwald E. et al (eds) "Harrison's. Principles of internal medicine". McGraw-Hill Med. Publ. Div., N.York, p1805 (2001)
4. Guyton A., Hall J.: Textbook of medical physiology. Saunders W. Company. Philadelphia USA, (1996)
5. Despotopoulos A., Sibernagl S.: Color Atlas of Physiology, Georg Thieme Verlag, N.York (1986)
6. Shimizu Y., Hunt St.: Regulating integrin-mediated adhesion. One more function for P13-kinase. *Immunol. Today* 12:565-573 (1996)
7. Κόκκας Β.: Φάρμακα σε χρόνιες φλεγμονές. Νέες τάσεις. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.* 15: 91-100 (1997)
8. Boehncke W., Schon M.: Interfering with leukocyte rolling. A promising therapeutic approach in inflammatory skin disorders. *Trends Pharmacol. Sci.* 24:49-52 (2003)
9. Cocks T., Moffatt J.: Protease-activated receptors. Sentries for inflammation?. leukocytes. *Trends Pharmacol.Sci.* 21:103-108 (2000)
10. Vergnolle N., Wallace J., Bunnett N., Hollenberg M.: Protease-activated receptors in inflammation, neuronal signaling and pain. *Trends Pharmacol.Sci.* 22:146-152 (2001)
11. Fiorucci St., Distruti E.: Role of PAR2 in pain and inflammation. *Trends Pharmacol.Sci.* 23:153-155 (2003)
12. Sanders-Bush E., Mayer S.: 5-hydroxytryptamine (serotonin). Receptor agonists and antagonists. In: Hardman J. and Limbird L (eds) "Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics". McGraw-Hill Med. Publ. Co., New York, pp 269-290 (2001)
13. Marnett L. and Kalgutkar A.: Cyclooxygenase 2 inhibitors. Discovery selectivity and the future. *Trends Pharmacol. Sci.* 20:465-469 (1999)
14. Ahluwalia A., perretti M.: B<sub>1</sub> receptors as new inflammatory target. Could this B be the 1? *Trends Pharmacol. Sci.* 20:100-104 (1999)
15. Smith W. and Garavito M. and DeWitt D.: Prostaglandin endoperoxide H synthases (cyclooxygenases-1 and 2. *J.Biol.Chem.* 271:33157-33160 (1996)
16. Loll P., Picot D. and Garavito R.: The structural basis of aspirin activity in-

- ferred from crystal structure of inactivated prostaglandin H<sub>2</sub> synthase. *Nature Structural Biology* 2: 637-643 (1995)
17. Morrow J., Roberts J.K.: Lipid-derived autocooids. In: Hardman J. and Limbird L (eds) "Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics". McGraw-Hill Med. Publ. Co., New York, pp 669-685 (2001)
  18. Kokkas B., Boeynaems J.M.: Release of prostacyclin from the dog saphenous vein by 5-hydroxytryptamine. *Eur.J.Pharmacol.* 147:473-476 (1988)
  19. Bloom F.: Drugs acting on the central nervous system. In: Hardman J. and Limbird L (eds) "Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics". McGraw-Hill Med. Publ. Co., New York, pp 293-320 (2001)
  20. Murphy P.: Chemokine receptors. glucocorticoids and pathological significance. National Institutes of Health, Bethesda. MD USA, *Trends pharmacol. Sci.* 17: attached paper, (1996)
  21. Brown N., Roberts L.J.: Histamine, bradykinin, and their antagonists. In Hardman J. et al: (eds). "Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics". P. 1649, McGraw-Hill Med. Publ. Div., N.York, pp 645-667 (1999)
  22. Pinckard R.: Pathophysiology of the inflammatory Process, Inflammation Lectures-1998, *Internet-Medline* (2003)
  23. Morrow J., Roberts L.J.: Lipid derived autocooids. In Hardman J. et al: (eds). "Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics". P. 1649, McGraw-Hill Med. Publ. Div., N.York pp 669-685 (1999)
  24. Zeng M., Zhang H., Lowell C., He P.: Tumor necrosis factor-alpha induced adhesion of microvessel permeability. *Am. J. Physiology* 283: H2420-H2430 (2002)
  25. Gaetano G., Benedetta Donati M., Cerletti C.: Prevention of thrombosis and vascular inflammation. Benefits and limitations of selective or combined COX-1, COX-2 and 5-LOX inhibitors. *Trends Pharmacol. Sci.* 24: 245-251 (2003)
  26. Yao X., Huang Y.: From nitric oxide to endothelial cytosolic Ca<sup>2+</sup> a negative feedback control. *Trends Pharmacol.Sci.* 24:263-266 (2003)
  27. Morrow J., Roberts L.: Lipid derived autocooids. Eicosanoids and platelet activating factor. In: Hardman J. et Limbird L. eds. Goodman and Gilman's . The pharmacological basis of therapeutics. New York. McGraw – Hill, pp 669-685 (2001)
  28. Garavito M.: The cyclooxygenase-2 structure. K new drugs for an old target ? *Nature Struct. Biol.* 3:897-901(1996)

29. Busse R., Fleming I.: Regulation of endothelium-derived vasoactive autotocoid production by hemodynamic forces. *Trends Pharmacol. Sci* 24: 24-29 (2003)
30. Vane J., Botting R.: Clinical significance and potential of selective COX-2 inhibitors. London. William Harvey Press (1998)
31. Κόκκας Β.: Εκλεκτικοί αναστολείς της κυκλοοξυγενάσης - 2. Προβλήματα και προοπτικές. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.* 18:43-48 (2000)
32. Cirino G., Fiorucci S., Sessa W.: Endothelial nitric oxide synthase. The cinderella of inflammation. *Trends Pharmacol. Sci.* 24:91-95 (2003)
33. Smith W., Langenbach R.: Why there are two cyclooxygenase isoenzymes. *J. Clin. Invest.* 107: 1491-1495 (2001)
34. Hinz B., Brune K.: Cyclooxygenase-2. 10 years later. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 300: 367-375 (2002)
35. Wallace J.; Selective COX-2 inhibitors. Is the water becoming muddy? *Trends Pharmacol. Sci.* 20:4-6152 (1999)
36. Bley K., Hunter J., Eglen R., Smith J.: The role of IP prostanoid receptors in inflammatory pain. *Trends Pharmacol. Sci.* 19:141-147 (1998)
37. Κόκκας Β, Παπαδόπουλος Κ.Λ.: Οξείδιο του αζώτου ή νιτροξειδίο. Καρδιαγγειακό σύστημα και φάρμακα. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.* 18:149-162 (2000)
38. Lames S., Perez-Sala D., Moncada S.: Nitric oxide: from discovery to the clinic. *Trends Pharmacol. Sci.* 19:436-438 (1998)
39. Colasanti M., Suzuki H.: The dual personality of NO. *Trends Pharmacol. Sci.* 21:249-251 (2000)
40. Πλέσσας Χ., Πλέσσας Σ.: Οξείδιο του αζώτου. Βραβείο Nobel Ιατρικής και Φυσιολογίας 1998. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.* 16: 133-143 (1998)
41. Coldring C., Narayan R., Lagadec P., Jeannin J.: Transcriptional inhibition of the inducible nitric oxide synthase gene by competitive binding of NF-kB/Rel proteins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 216:438-446 (1995)
42. Murphy W.: Transcriptional regulation of genes encoding nitric oxide synthase. In: Laskin J. and Laskin D. (eds) "Cellular and molecular biology of nitric oxide", Marcel Dekker Inc., N.York, p.1 (1999)
43. Giumaraes S., Moura D.: Advances in vascular neuroeffector mechanisms. *Trends Pharmacol. Sci.* 20:90-93 (1999)
44. Reid J, Beart P., Marley P.: NO problems down-under. *Trends Pharmacol. Sci.* 17:205-208 (1996)
45. Ghafourifar P., Cadenas E.: Mitochondrial nitric oxide synthase. *Trends Pharmacol. Sci.* 26:190-195 (2005)



46. Farivart S., Brecher P.: Salicylate is a transcriptional inhibitor of the inducible nitric oxide synthase in cultural cardiac fibroblast. *J.Biol.Chem.* 271:31585-31592 (1996)
47. Szabo C., Dawson V.: Role of poly(ADP-ribose) synthetase in inflammation and ischaemia-reperfusion. *Trends Pharmacol. Sci.* 19:287-295 (1998)
48. Campbell W.: New role for epoxyeicosatrienoic acids as anti-inflammatory mediators. *Trends Pharmacol. Sci.* 21:125-126 (2000)
49. Κόκκας Β.: Θέματα Μοριακής Φαρμακολογίας. University Studio Press, Θεσσαλονίκη (1999)
50. Κόκκας Β.: Αγγειοδιασταλτικοί παράγοντες και γουανυλοκυκλάσες. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.* 14: 27-32 (1996)
51. Hobbs A.: Soluble guanylate cyclase. The forgotten sibling. *Trends Pharmacol. Sci.* 18:484-491 (1997)
52. Nicotera P, Leist M., Manzo L.: Neuronal cell death. A demise with different shapes. *Trends Pharmacol. Sci.* 20:46-51(1999)
53. Ward C, Dransfield I, Chilvers E, Haslet C, Ross A.: Pharmacological manipulation of granulocyte apoptosis. Potential therapeutic targets. *Trends Pharmacol. Sci.* 20:503-509 (1999)
54. Szabo C., Dewson V.: Role of poly(ADP-ribose) synthetase in inflammation and ischemia-reperfusion. *Trends Pharmacol. Sci.* 19:287-297(1998)
55. Perretti M.: Endogenous mediators that inhibit the leukocyte-endothelium interaction. *Trends Pharmacol. Sci.* 18:418 -424 (1997)
56. Eder J.: Tumour necrosis factor a and interleukin 1 signalling. *Trends Pharmacol.Sci.* 18:319-322 (1997)
57. Mehrabian M., Allayee H.: 5-Lipoxygenase and atherosclerosis. *Cur. Op. Lipidiol.* 14: 447-457 (2003)
58. McMahon B., Mitchell S., Brady H., Goston C.: Lipoxins. Revelation on resolution. *Trends Pharmacol.Sci.* 22:391-395 (2001)
59. Wallace J., Fiorucci S.: A magic bullet for mucosal protection...and aspirin is the trigger. *Trends Pharmacol.Sci.* 24:323-326 (2003)
60. Hasko g., Sitkovski M., Szabo C.: Immunomodulatory and neuroprotective effects of inosine. *Trends Pharmacol. Sci* 25: 152-157 (2004)
61. Lecci A.: Antinociceptive and proinflammatory roles for NPY<sub>1</sub> receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* 22: 221 (2001)
62. Michael C.: Quenching fire with fat. Phosphatidylinositides as putative regulators of pain. *Trends Pharmacol. Sci.* 22: 602-604 (2001)
63. Campbell W.: New role for epoxyeicosatrienoic acids as anti-inflammatory mediators. *Trends Pharmacol. Sci.* 21:125-126 (2000)
64. Egolt R., Heindel N.: Structure-activity relationships in NOS inhibitors.

- In: Laskin J. and Laskin D. (eds) "Cellular and molecular biology of nitric oxide", Marcel Dekker Inc., N.York, p125 (1999)
65. Man-Ying Chan M., Fong D.: Modulation of nitric oxide pathway by natural products. In: Laskin J. and Laskin D. (eds) "Cellular and molecular biology of nitric oxide", Marcel Dekker Inc., N.York p333 (1999)
  66. Liaudel L, Schaller M., and Feihl F.: Selective pharmacological inhibition of inducible nitric oxide synthase in experimental septic shock. In: Vincent (ed) "Yearbook of emergency and intensive care medicine" Springer Verlag, Berlin, pp 161-177 (1998)
  67. Liaudel L, Schaller M., and Feihl F.: Selective pharmacological inhibition of inducible nitric oxide synthase in experimental septic shock. In: Vincent (ed) "Yearbook of emergency and intensive care medicine". Springer Verlag, Berlin, pp 161-177 (1998)
  68. Lever R.: iNOS in arthritis-inducible or innocent. *Trends Pharmacol. Sci.* 22: 220-221 (2001)

## Πορεία των λευκοκυττάρων προς την ιστική βλάβη κατά την εξέλιξη της φλεγμονής – Τα μόρια προσκόλλησης και οι φαγοκυτταρικοί μηχανισμοί ως φαρμακολογικοί στόχοι

Β. Κόκκας, Α. Γούλας και Π. Κόκκα  
Εργαστήριο Φαρμακολογίας  
Ιατρική Σχολή Α.Π.Θ.

### περίληψη

Η φλεγμονή αποτελεί έναν μηχανισμό άμυνας του οργανισμού και των ιστών σε κάθε βλαπτικό ερέθισμα και συνιστά ένα πολύπλοκο φαινόμενο στο οποίο εμπλέκονται πολλοί μοριακοί παράγοντες. Σκοπός είναι η απομάκρυνση του αιτίου που την προκάλεσε και η αποκατάσταση ή ο περιορισμός της βλάβης. Η πορεία των φαγοκυττάρων προς το σημείο της ιστικής βλάβης καθορίζεται από χημειοτακτικούς παράγοντες που απελευθερώνονται κατ' αρχήν από τοπικά κύτταρα και στη συνέχεια από κύτταρα που συρρέουν στην τραυματισθείσα περιοχή. Το πέρασμα των φαγοκυττάρων από την αιματική κυκλοφορία προς την ιστική βλάβη διευκολύνεται από τα μόρια προσκόλλησης και την αυξημένη διαβατότητα του ενδοθηλίου. Η φαγοκυττάρωση την οποία αναπτύσσουν γίνεται μέσα από πολύπλοκους μηχανισμούς. Η φαρμακολογική έρευνα αναζητεί διαρκώς στόχους σε μοριακό επίπεδο σε όλο το φάσμα των μηχανισμών που διέπουν τη μετακίνηση των κυττάρων αυτών και την ανάπτυξη της φαγοκυττάρωσης, ώστε να επιτύχει εκλεκτικές παρεμβάσεις.

### εισαγωγή

Η φλεγμονή είναι ένα πολύπλοκο φαινόμενο στο οποίο εμπλέκονται πολλοί μοριακοί παράγοντες και δεν εκφράζει τίποτε άλλο παρά την κινητοποίηση των αμυντικών μηχανισμών του οργανισμού σε κάθε βλαπτικό ερέθισμα. Σκοπός των μηχανισμών που αναπτύσσονται είναι η απομάκρυνση του αιτίου που την προκάλεσε και η αποκατάσταση ή ο περιορισμός της βλάβης.

Αμέσως μετά την τραυματική βλάβη, τα αιμοφόρα αγγεία που αρδεύουν την περιοχή αυτή συσπώνται περιορίζοντας την απώλεια αίματος καθώς και την εξάπλωση και διασπορά του αιτίου της ιστικής βλάβης, εφόσον αυτό είναι παθογόνο αίτιο. Κατά την πρώιμη φάση της φλεγμονής πολλά δραστικά μόρια απελευθερώνονται από κύτταρα και μακρομόρια που ευ-

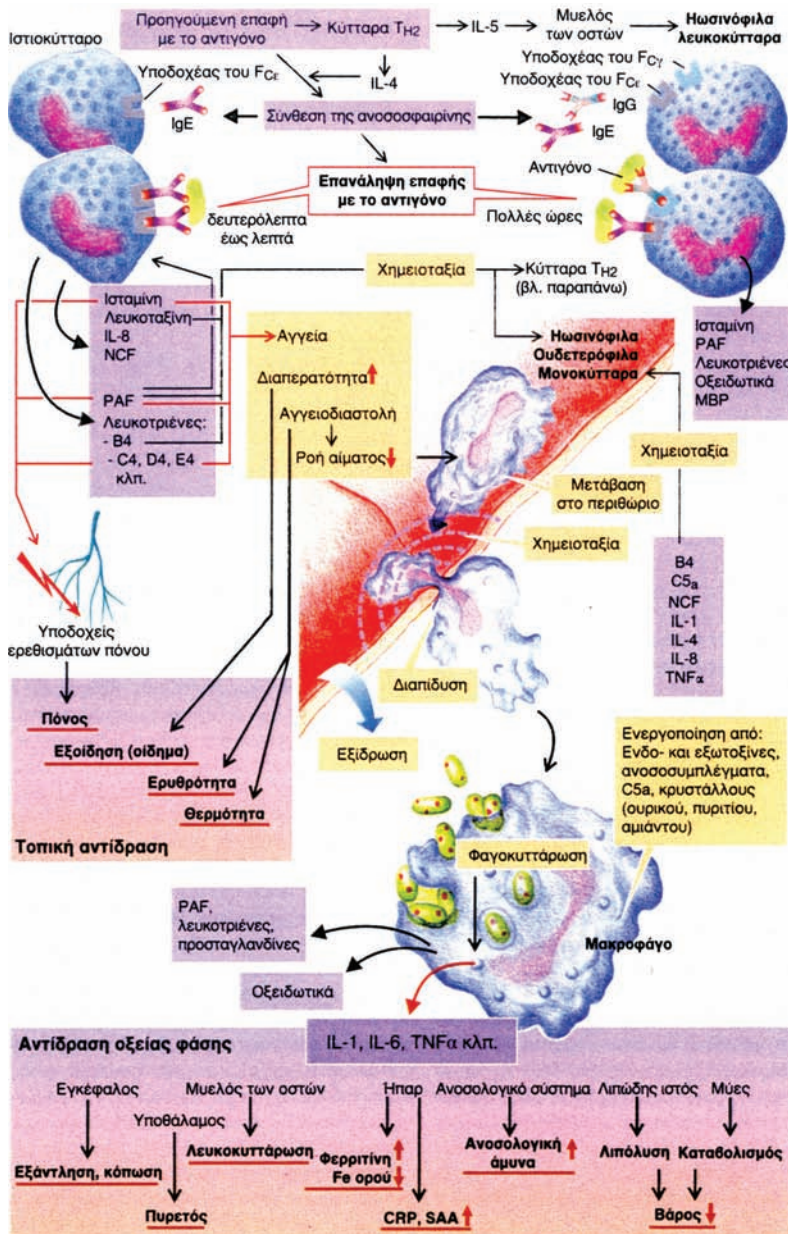
ρίσκονται στο χώρο αυτό με ενεργητικούς και παθητικούς μηχανισμούς και συσσωρεύονται στην περιοχή αυτή. Μερικά από τα μόρια αυτά θα αντιπροσωπεύσουν το αρχικό κύμα βιοχημικών σημάτων στα οποία τα κύτταρα και τα μακρομόρια που δεν ευρίσκονται στη συγκεκριμένη περιοχή θα ανταποκριθούν μεθοδεύοντας τις μετέπειτα φάσεις της φλεγμονής. Προς το τέλος των γεγονότων αυτών, η αγγειοσύσπαση θα δώσει τη θέση της στην αγγειοδιαστολή. Η αγγειοδιαστολή αυτή θα διευκολύνει τη ροή αίματος στην ήδη περιχαρακωμένη περιοχή και θα διευκολύνει επίσης την είσοδο και την έξοδο των μοριακών και κυτταρικών στοιχείων καθώς και των προϊόντων τους προς και από την περιοχή της φλεγμονής. Η σύσπαση των ενδοθηλιακών κυττάρων η οποία θα ακολουθήσει και κατ' επέκταση η αύξηση της διαπερατότητας του ενδοθηλίου θα διευκολύνει ακόμη περισσότερο τη διακίνηση των μοριακών και κυτταρικών στοιχείων που θα συρρέουν στην περιοχή της ιστικής βλάβης (1-8).

Τα λευκοκύτταρα που συρρέουν στην περιοχή της ιστικής βλάβης ακολουθώντας τα εγκατεστημένα χημικά ρεύματα αναπτύσσουν στα σημεία αυτά πολλές ενέργειες. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται η στράτευση επιπρόσθετων στοιχείων ανταπόκρισης, η φαγοκυττάρωση, η ενδοκυττάρια και εξωκυττάρια διάσπαση των μικροβιακών και των κυτταρικών συντριμμάτων, η αποκατάσταση των ιστών και η παρουσία ή και η μεταφορά των παραπάνω συντριμμάτων στον λεμφικό ιστό για τη μεθόδευση της ανοσιακής απόκρισης. Όλα τα είδη των λευκοκυττάρων προσκολλώνται επί και διέρχονται το τοίχωμα των αποκαλούμενων φλεβιδίων υψηλού ενδοθηλίου (HEV: High Endothelial Venules) (1).

Η αδυναμία επιτυχούς αντιμετώπισης του ιστικού τραυματισμού για λόγους που δεν αφορούν τη μελέτη αυτή οδηγεί στην ανάπτυξη ενός φαύλου κύκλου μη αποτελεσματικών κινητοποιήσεων του αμυντικού συστήματος και σε χρονιότητα της φλεγμονής.

Φλεγμονώδεις μηχανισμοί εμφανίζονται και σε άλλες παθολογικές καταστάσεις όπως οι αντιδράσεις υπερευαισθησίας, οι αυτοάνοσες παθήσεις και οι ισχαιμικές και μετischαιμικές καταστάσεις. Στις αυτοάνοσες παθήσεις, τα λευκοκύτταρα στρέφονται εναντίον των κυττάρων και των πρωτεϊνών στρώματος τραυματίζοντας τα πρώτα και κατακρημνίζοντας τις δεύτερες.

Οι μηχανισμοί προσκόλλησης των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο και διέλευσης μέσω αυτού προς την ιστική βλάβη, καθώς και η φαγοκυτταρική δράση που αναπτύσσουν αυτά στη συνέχεια, συνιστούν μια πορεία που μεθοδεύεται από πολύπλοκους μοριακούς μηχανισμούς. Μέσα από τους μηχανισμούς αυτούς αποκαλύπτονται μόρια και παράγοντες που αποτελούν σήμερα στόχους για φαρμακολογική παρέμβαση.



**Εικόνα 5.1:** Σχηματική παράσταση των διαφόρων φάσεων εξέλιξης της οξείας φλεγμονής. Η ιστική βλάβη και η κινητοποίηση των ιστικών αμυντικών στοιχείων έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση αγγειοδραστικών ουσιών και μεσολαβητών της φλεγμονής. Τα φλεγμονώδη φαινόμενα που επακολουθούν έχουν ως στόχο την εξουδετέρωση του βλαπτικού παράγοντα. *Silbernagl St., Lang F.: Εικονογραφημένο εγχειρίδιο Παθοφυσιολογίας, Ιατρικές & Επιστημονικές Εκδόσεις Σιώκη (2002)*

## **ΧΗΜΕΙΟΤΑΞΙΑ**

Με τον όρο αυτό εννοούμε την κατευθυνόμενη μετανάστευση των λευκοκυττάρων η οποία αναπτύσσεται όταν αυξηθεί η συγκέντρωση ενός χημειοτακτικού παράγοντα. Οι μεσολαβητές αυτοί ονομάζονται χημειοκίνες και η απελευθέρωσή τους αρχίζει αμέσως μετά την ιστική βλάβη. Στις γραμμές που ακολουθούν θα γίνει μόνο μια συνοπτική παρουσίαση της ταυτότητας των κυριότερων χημειοκινών και παραγόντων με ανάλογη ή αντίθετη δράση (7-9).

### ***C5a παράγοντας του συμπληρώματος***

Το C5a είναι ένας παράγοντας ο οποίος σχηματίζεται μετά την ενεργοποίηση του συμπληρώματος. Το συμπλήρωμα, ως γνωστόν, αποτελείται από μία ομάδα πρωτεϊνών του πλάσματος οι οποίες ενεργοποιούμενες δίνουν, πρωτεολυτικά, γένεση σε μία πλειάδα σημαντικών πεπτιδίων και μεσολαβητικών της φλεγμονής πρωτεϊνών, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται και οι παράγοντες C3a και C5a. Όλοι αυτοί οι μεσολαβητές συνεργούν ομαδικά στη ρύθμιση όλων των μορφών της φλεγμονώδους διαδικασίας. Ο C5a είναι ένας ιδιαίτερα ισχυρός χημειοτακτικός παράγοντας για τα πολυμορφοπύρρηνα και αυξάνει τη διαβατότητα των τριχοειδών. Οι παράγοντες C3a και C5a διεγείρουν τα σιτευτικά κύτταρα στο να απελευθερώνουν περαιτέρω μεσολαβητές της φλεγμονής. Τα ενεργοποιημένα πολυμορφοπύρρηνα μέσω των C3b-υποδοχέων τους οποίους φέρουν συνδέονται με τα επενδυμένα με το C3b μικρόβια και τα προσλαμβάνουν στο εσωτερικό τους. Το C3b προέρχεται και αυτό από την αρχική πρωτεολυτική διάσπαση του συμπληρώματος (10).

### ***Λευκοτριένη B4 (LTB4)***

Η LTB4 είναι μία λευκοτριένη προϊόν μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος μέσα από το βιοχημικό μονοπάτι της 5-λιποοξυγενάσης. Δρα ως ισχυρός χημειοτακτικός παράγοντας των πολυμορφοκυττάρων, των ηωσινοφίλων και των μονοκυττάρων κατά την εξέλιξη της φλεγμονής. Προάγει την πρόσφυση των ουδετερόφιλων λευκοκυττάρων στο ενδοθηλιακό τοίχωμα και τη δια μέσου αυτού μετανάστευσή τους στους υποκείμενους ιστούς. Σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις διεγείρει τη συσσώρευση των πολυμορφοκυττάρων και προάγει την αποκοκκίωσή τους και το σχηματισμό οξειδωτικών ριζών.

### ***5-HETE***

Πρόκειται υδροξυλιπαρό οξύ, προϊόν του ασταθούς 5-HPETE (5-Hydroperoxyicosatetraenoic acid: 5-υδροϋπεροξεικοσατετραενοϊκό οξύ) το οποίο με

τη σειρά του είναι προϊόν μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος μέσα από το μονοπάτι της 5-λιποοξυγενάσης. Το 5-HPETE με τη δράση της υπεροξειδάσης ή με μη ενζυμικό μηχανισμό μετατρέπεται στο αντίστοιχο υδροξυλιπαρό οξύ 5-HETE. Δρα και αυτό ως χημειοτακτικός παράγοντας κατά την εξέλιξη της φλεγμονής.

### **IL-8**

Η IL-8 είναι μία ιντερλευκίνη η οποία συντίθεται από τα μονοκύτταρα-μακροφάγα, τα T-λεμφοκύτταρα, τα ουδετερόφιλα, τους ινοβλάστες, τα ενδοθηλιακά και τα επιθηλιακά κύτταρα. Οι υποδοχείς της είναι οι CXCR1 και CXCR2 και κύτταρα στόχοι είναι τα ουδετερόφιλα, τα T-λεμφοκύτταρα, τα μονοκύτταρα-μακροφάγα, τα ενδοθηλιακά και τα βασεόφιλα κύτταρα. Προάγει τη μετανάστευση των ουδετεροφίλων, των μονοκυττάρων και των T-λεμφοκυττάρων, την προσκόλληση των ουδετεροφίλων στο ενδοθήλιο, και την απελευθέρωση της ισταμίνης από τα βασεόφιλα, ενώ διεγείρει την αγγειογένεση και καταστέλλει τον πολλαπλασιασμό των ηπατικών προδρόμων κυττάρων.

### **PAF**

Ο ενεργοποιητικός παράγοντας των αιμοπεταλίων (PAF: Platelet Activating Factor) συνδέεται, μεταξύ άλλων, με την επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων και δρα ως μόριο προσκόλλησης μεταξύ λευκοκυττάρων και αιμοπεταλίων. Παράλληλα προάγει τη σύσπαση των ενδοθηλιακών κυττάρων και την αύξηση του μεσοκυττάρου διαστήματος, γεγονός που διευκολύνει την αυξημένη διαβατότητα.

### **Λιποκορτίνη 1 ή ανεξίνη 1**

Η λιποκορτίνη 1 ή ανεξίνη 1 ανήκει σε μία πρωτεϊνική υπεροικογένεια της οποίας τα μέλη έχουν την ικανότητα να συνδέονται με όξινα φωσφολιπίδια και  $Ca^{2+}$ . Περιλαμβάνει μέχρι στιγμής 13 μέλη, εκ των οποίων η λιποκορτίνη 1 και η λιποκορτίνη 5 φαίνεται ότι έχουν τη μεγαλύτερη σχέση με τη φυσιοπαθολογία της φλεγμονής (11).

Είναι γνωστό από παλαιότερα ότι η λιποκορτίνη 1 αναστέλλει τη δράση της φωσφολιπάσης  $A_2$  και με τον τρόπο αυτό καταστέλλει τη σύνθεση των προστανοειδών. Σχετικά πρόσφατα έχει διαπιστωθεί ότι η λιποκορτίνη 1 η οποία αποτελεί το 2-4% των πρωτεϊνών των ουδετερόφιλων κοκκιοκυττάρων, δρα ανασταλτικά στη στράτευση, τη μετανάστευση και την παραγωγή οξειδωτικών ριζών από τα κύτταρα αυτά. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, τα ουδετερόφιλα κοκκιοκύτταρα δεν εξαγγειώνονται και αυτό οφείλεται πιθανόν στην τονική ανασταλτική δράση της ενδογενούς λιποκορτίνης 1.

Πιθανόν αυτό να οφείλεται και στο αυτοκρινές μονοπάτι της ουσίας αυτής που κρατά τα κύτταρα αυτά στην κυκλοφορία ακόμη και όταν έρχονται σε επαφή με το αγγειακό τοίχωμα. Με την προσκόλληση των κυττάρων στο ενδοθήλιο και το ειδικό σήμα που παράγεται, ακολουθεί η εξωτερίκευση της λιποκορτίνης1 στην κυτταρική μεμβράνη. Από το σημείο αυτό η λιποκορτίνη 1 προάγει την απαγκίστρωση των κυττάρων αυτών από το ενδοθήλιο. Η λιποκορτίνη1 απευαισθητοποιεί τον υποδοχέα FPR (Formyl Peptide Receptor) που απαντά στα φαγοκυτταρικά λευκοκύτταρα, υποδοχέα που συνδέεται με την κινητοποίηση και τη μετανάστευσή τους. Επίσης η ίδια ουσία συνδέεται και με τον υποδοχέα ALXR της λιποζίνης A<sub>4</sub> εκδηλώνοντας ανάλογη ανασταλτική δράση (11,12).

Ο μηχανισμός αυτός ανταγωνίζεται το εκλυόμενο κύμα των χημειοκινών που οδηγεί τα κύτταρα αυτά προς τον υπενδοθηλιακό χώρο. Οι απελευθερούμενες πάλι φλεγμονογόνες κυτταροκίνες IL-1 και IL-6 προάγουν την απελευθέρωση των γλυκοκορτικοειδών τα οποία ισχυροποιούν τα ενδογενή αντιφλεγμονώδη βιοχημικά μονοπάτια και αναστέλλουν τα αντίστοιχα ενδογενή προφλεγμονώδη (11).

## Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΜΟΡΙΩΝ ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΣΗΣ

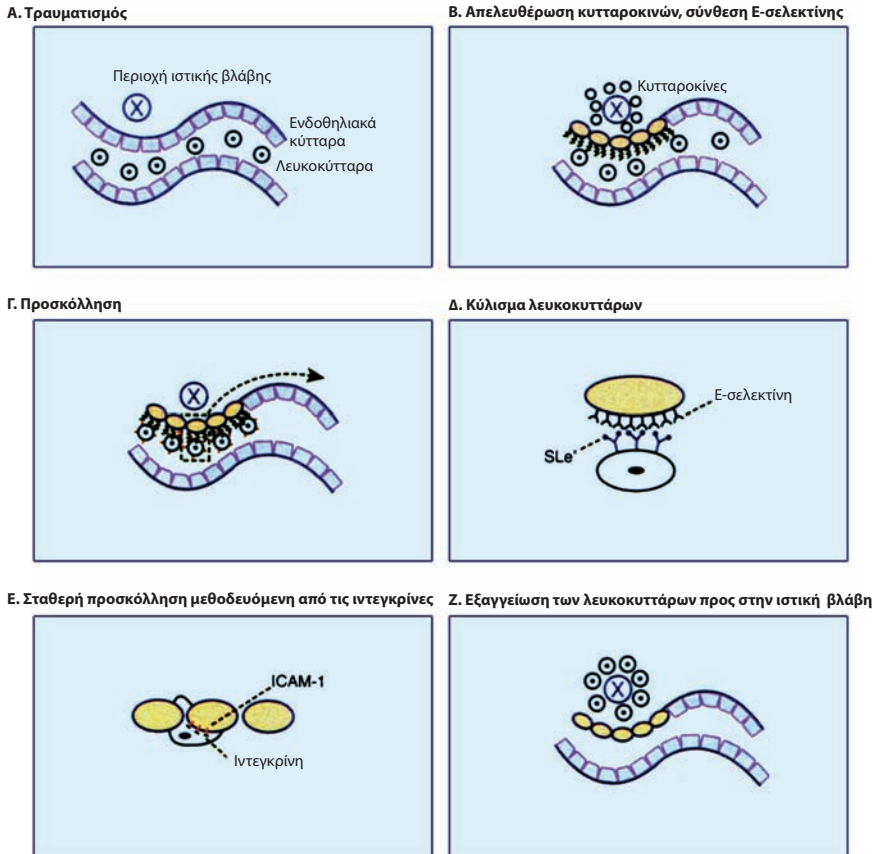
Τα μόρια προσκόλλησης (CAM: Cell Adhesion Molecules) είναι πρωτεΐνες οι οποίες ευρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη είτε ως μόνιμες είτε ως επαγόμενες και χρησιμεύουν ως υποδοχείς ή ως προσδέτες οι οποίοι ρυθμίζουν τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ κυττάρων με κύτταρα ή κυττάρων με το υπόστρωμα. Τα κυριότερα CAMs τα οποία σχετίζονται με την ανάπτυξη και την εξέλιξη της φλεγμονής είναι οι σελεκτίνες, οι ιντεγκρίνες, τα ICAM (Intracellular Adhesion Molecule) και ο PAF.

### Σελεκτίνες

Οι σελεκτίνες είναι μόρια προσκόλλησης και απαντούν σε διάφορους υποτύπους. Είναι παρούσες τόσο στα λευκοκύτταρα όσο και στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Το μόριό τους περιέχει υδατανθρακικές αλυσίδες που προβάλλουν από πρωτεϊνικούς σκελετούς. Μέσω των παραπάνω δεσμών δημιουργούνται παροδικές αλληλεπιδράσεις των μορίων αυτών μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων και των λευκοκυττάρων. Οι αντιδράσεις αυτές προκαλούν τη δέσμευση και το κύλισμα των λευκοκυττάρων στην επιφάνεια του ενδοθηλίου.

Οι γλυκοπρωτεΐνες αυτές που απαντούν στα λευκοκύτταρα (L-σελεκτίνη) και στα ενδοθηλιακά κύτταρα (E και P σελεκτίνες), ενεργούν ως υποδοχείς οι

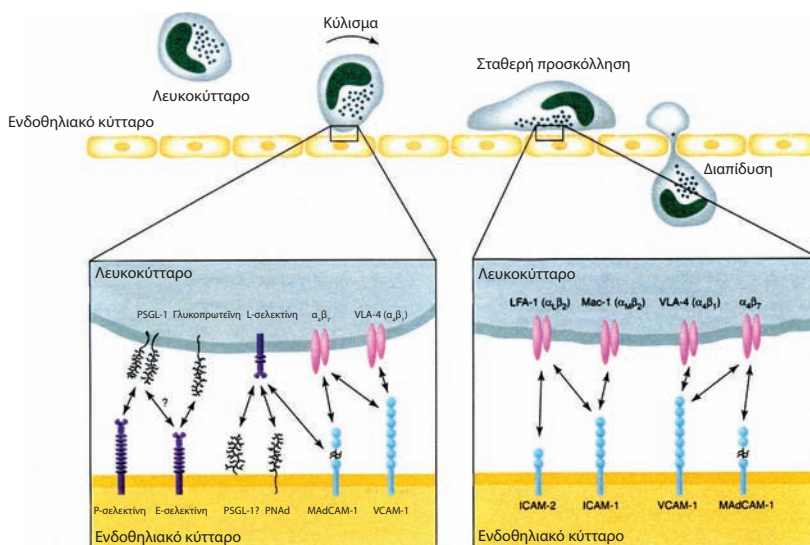




**Εικόνα 5.2: Ο ρόλος των μορίων προσκόλλησης στη φλεγμονή.** Ο ιστικός τραυματισμός έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση κυτταροκινών οι οποίες, μεταξύ άλλων, προάγουν την έκφραση των μορίων προσκόλλησης στα λευκοκύτταρα, στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στα αιμοπετάλια. Τα μόρια αυτά μεθοδεύουν τη μετανάστευση των λευκοκυττάρων δια του ενδοθηλίου προς την περιοχή της ιστικής βλάβης. Στην εικόνα αυτή αναπαριστάται η πορεία αυτή των λευκοκυττάρων. *Sigma: Signal Transduction and Neuroscience (1999)*

οποίοι μεθοδεύουν την πρόσκαιρη προσκόλληση των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο, για να επακολουθήσει το κύλιση αυτών (8,13).

Η L-σελεκτίνη (LECAM-1 ή CD62L) η οποία εκφράζεται δομικά στα ουδετερόφιλα και τα μονοπύρνα, προάγει τη δέσμευση αυτών στο ενδοθήλιο υποβοηθώντας τις αλληλεπιδράσεις από άλλα CAMs όπως η E-σελεκτίνη, τα



**Εικόνα 5.3: Κυτταρικά μόρια προσκόλλησης (CAMs) τα οποία μεθοδεύουν την προσκόλληση των λευκοκυττάρων στα ενδοθηλιακά κύτταρα.**

Η αρχική αιχμαλωσία και το κύλισμα των λευκοκυττάρων στην ενδοθηλιακή επιφάνεια μεθοδεύεται κυρίως από την παροδική αλληλεπίδραση των σελεκτινών που ευρίσκονται τόσο στα λευκοκύτταρα (L-σελεκτίνη) όσο και στα ενδοθηλιακά κύτταρα (P-σελεκτίνη και E-σελεκτίνη) με υδατανθρακικούς δεσμούς μικρής και μεγάλης συγγένειας όπως η PSGL-1 (P-Selectin Glycoprotein Ligand-1) και η PNA<sub>L</sub> (Peripheral Node Addressin) στο επίπεδο των κυτταρικών μεμβρανών. Το κύλισμα των λευκοκυττάρων μπορεί επίσης να μεθοδευθεί από αλληλεπιδράσεις μικρής συγγένειας μεταξύ των ιντεγκρινών α<sub>4</sub>β<sub>1</sub> (VLA-4: Very Late Antigen-4) και α<sub>4</sub>β<sub>2</sub> των λευκοκυττάρων και των μορίων προσκόλλησης του ενδοθηλιακού κυττάρου VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule-1) και MAdCAM-1 (Mucosal Addressin Cell Adhesion Molecule-1). Χημειοτακτικοί παράγοντες στην επιφάνεια του ενδοθηλιακού κυττάρου ενεργοποιούν τις ιντεγκρίνες των κυλιόμενων λευκοκυττάρων και προάγουν την προσκόλλησή τους στο ενδοθήλιο. Οι βασικοί ιντεγκρινικοί υποδοχείς που μεθοδεύουν τη σταθεροποίηση της προσκόλλησης των λευκοκυττάρων είναι μέλη της οικογένειας των β<sub>2</sub> ιντεγκρινών. Πρόκειται για τις ιντεγκρίνες α<sub>L</sub>β<sub>2</sub> (CD11a/CD18) ή LFA-1 (Leukocyte Function Antigen-1), α<sub>M</sub>β<sub>2</sub> (CD11b/CD18) ή Mac-1 καθώς επίσης και για τις ιντεγκρίνες α<sub>4</sub>β<sub>1</sub> και α<sub>4</sub>β<sub>2</sub>. Οι ιντεγκρίνες αυτές αλληλεπιδρούν με τους υποδοχείς του ενδοθηλιακού κυττάρου ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule-1), ICAM-2, VCAM-1 και MAdCAM-1 που είναι μόρια προσκόλλησης και ανήκουν στην υπεροικογένεια των ανοσοσφαιρινών.

Ο δυναμικός αποκλεισμός των αλληλεπιδράσεων αυτών με μονοκλωνικά αντισώματα ή συνθετικά παράγωγα θα μπορούσε να αναστείλει την εξαγωγή των λευκοκυττάρων και τη μετανάστευσή τους στα σημεία της ιστικής βλάβης.

*Trends Pharmacol. Sci.* 24: 640-646 (2003)

ICAM-1 και ICAM-2 και οι ιντεγκρίνες. Η σελεκτίνη αυτή προβάλλεται από την επιφάνεια αυτών των λευκοκυττάρων αμέσως μετά τη διέγερσή τους.

Η E-σελεκτίνη (ELAM-1: Endothelial Leucocyte Adhesion Molecule-1 ή CD62E) η οποία είναι ένα επαγόμενο μέλος της οικογένειας των CAM, συντί-

θεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα μετά από διέγερση από τους παράγοντες LPS, IL-1 και TNF- $\alpha$  και προάγει την προσκόλληση των λευκοκυττάρων στα ενδοθηλιακά κύτταρα.

Η P-σελεκτίνη (GMP-140 ή CD62P) απαντά στα κοκκία των αιμοπεταλίων και στα σωμάτια Weidel-Palade των ενδοθηλιακών κυττάρων του ανθρώπου. Μετά τη διέγερση από διάφορα φλεγμονώδη ερεθίσματα φεύγει από τα κοκκία και εκφράζεται στην επιφάνεια των κυττάρων αυτών υποθάλποντας την πρόσφυση των ουδετερόφιλων και των μονοπύρηνων λευκοκυττάρων. Τα λευκοκύτταρα έχουν υποδοχείς για την P-σελεκτίνη και προσκολλώνται στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στα αιμοπετάλια που εκφράζουν στην επιφάνειά τους την P-σελεκτίνη.

Ο μεταγραφικός παράγοντας NF- $\kappa$ B (Nuclear Factor- $\kappa$ B) φαίνεται ότι διαδραματίζει κύριο ρόλο στην ενεργοποίηση των γονιδίων που κωδικοποιούν τις σελεκτίνες και τους προσδέτες τους. Ο παράγοντας αυτός ενεργοποιείται αφού αποχωρισθεί από το σύμπλοκο που σχηματίζει με την ανασταλτική πρωτεΐνη I $\kappa$ B. Η αποδέσμευση γίνεται με φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης I $\kappa$ B, η οποία διασπάται στη συνέχεια από το πρωτεολυτικό σύμπλεγμα του πρωτεοσωματίου (7).

Η προσφυτική δράση των σελεκτινών προϋποθέτει την ύπαρξη αντίστοιχων υποδοχέων/προσδετών στα κύτταρα στόχους. Οι υποδοχείς αυτοί αποτελούνται από υδατανθρακικά τμήματα, ενώ σε ορισμένα σημεία παρουσιάζουν ειδικά γλυκοζυλιωτικά ένζυμα. Δεν είναι ακριβώς γνωστή η δομή των υποδοχέων αυτών, πλην όμως είναι γνωστό το σημείο αρχικής σύνδεσης το οποίο είναι ένα τετρασακχαριδικό σιαλικό αντιγόνο Lewis X. Η PSGL-1 (P-selectin glycoprotein ligand-1) αποτελεί το βασικό μόριο πρόσδεσης των P-σελεκτινών και είναι υπεύθυνο για το μεγαλύτερο μέρος του μηχανισμού που προάγει το κύλισμα των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο. Η L-σελεκτίνη αντιδρά επίσης με την PSGL-1, γεγονός που προάγει την αιχμαλωσία των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο. Η συνέχιση του κυλίσματος και της πρόσφυσης των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο έχει ως αποτέλεσμα τη μετακίνηση από τα τελευταία των προσδετών που προέρχονται από την PSGL-1 προς την ενδοθηλιακή επιφάνεια. Αυτά αντιδρούν με τη L-σελεκτίνη των λευκοκυττάρων στις μετέπειτα φάσεις της φλεγμονής. Η L-σελεκτίνη αναγνωρίζει, επίσης, προσδέτες στο ενδοθήλιο των λεμφοειδών οργάνων, όπου αντιδρώντας με την PNA $\kappa$ /CD34 (Peripheral Node Addressin) και το MAdCAM-1 (Mucosal Addressin Cell Adhesion Molecule-1) προάγει την εγκατάσταση των λευκοκυττάρων στους λεμφαδένες και στις πλάκες του Peyers. Η E-σελεκτίνη προάγει το αργό κύλισμα των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο. Αν και η PSGL-1 έχει προταθεί ως υποδοχέας-προσδέτης, αυτό μάλλον δεν ευσταθεί (13).

Συνοψίζοντας, παρατηρούμε ότι στην αρχική φάση της φλεγμονής, τα λευκοκύτταρα δεσμεύονται ασθενώς με γλυκάνες, όπως η sLe<sup>x</sup> γλυκάνες (free sialylated Lewis X-like glycans), και ισχυρότερα με τα γλυκοπρωτεϊνικά αυτά προσκολλητικά μόρια προς τα οποία παρουσιάζουν μεγάλη συγγένεια. Καθώς τα λευκοκύτταρα κυλούν με μικρή ταχύτητα πάνω στο ενδοθήλιο, αυτό ευνοεί την αντίδραση των συνδεδεμένων με γλυκοσαμινογλυκάνες χημειοκινών των ενδοθηλιακών κυττάρων με τους αντίστοιχους υποδοχείς των χημειοκινών στα λευκοκύτταρα. Η σύνδεση αυτή προκαλεί την ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων. Ακολουθεί η ενεργοποίηση των ιντεγκρινών οι οποίες υπάρχουν και στα λευκοκύτταρα (6, 7).

### **Ιντεγκρίνες**

Οι ιντεγκρίνες αποτελούν μία μεγάλη ομάδα υποδοχέων οι οποίοι εντοπίζονται στην εξωτερική επιφάνεια όλων των κυττάρων πλην των αιμοσφαιρίων. Αποτελούν ετεροδιμερή α και β υπομονάδων οι οποίες συνδέονται με μη ομοιοπολικό δεσμό και οι οποίες διακρίνονται σε πέντε υποοικογένειες. Κάθε υποοικογένεια χαρακτηρίζεται από την ύπαρξη μίας κοινής β-αλυσίδας και από διάφορους τύπους α-αλυσίδων. Μέχρι σήμερα έχουν ευρεθεί 19 α και 8 β υπομονάδες που συνδυαζόμενες μεταξύ τους δίνουν 25 αβ ετεροδιμερή που δρουν ως υποδοχείς (8,13,14).

Από τους μέχρι σήμερα εξακριβωμένους υποτύπους των ιντεγκρινικών υποδοχέων, σημαντικοί για την εξέλιξη της φλεγμονής είναι οι παρακάτω υποτύποι που στο μόριό τους περιέχουν τη β<sub>2</sub>-αλυσίδα ή CD18 (8,13).

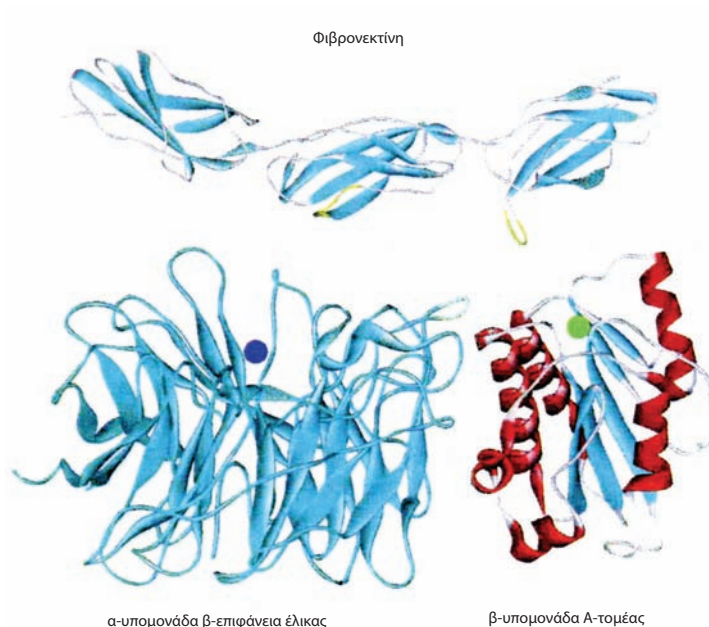
1. Η α<sub>1</sub>β<sub>2</sub> ή α1 (CD11a/ CD18), γνωστή και ως LFA-1 (Lymphocyte Function Antigen-1), η οποία ευρίσκεται σε όλα τα λευκοκύτταρα και αντιδρά με τους προσδέτες ICAM-1 και ICAM-2. Μεθοδεύει τη σταθερή πρόσφυση των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο. Επίσης, εξειδικευμένα μεθοδεύει την προσκόλληση των λεμφοκυττάρων στα μετατριχοειδή φλεβίδια των λεμφαδένων και είναι απαραίτητο στοιχείο για την ανάπτυξη της προσαρμοζόμενης ανοσιακής απόκρισης στα αντιγόνα.
2. Η α<sub>M</sub>β<sub>2</sub> ή αM (CD11b/CD18), γνωστή και ως MAC-1, MO-1, CR3, η οποία ευρίσκεται στα διεγερμένα ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα και λεμφοκύτταρα και αντιδρά με διάφορους προσδέτες όπως το C3bi τμήμα από το ενεργοποιημένο συμπλήρωμα, η φιμπρινονεκτίνη, ο παράγοντας X, τα μόρια προσκόλλησης ICAM-1 και ICAM-2 και οι λιποπολυσακχαρίδες (LPS: Lipopolysaccharides). Επίσης, μεθοδεύει τη σταθερή πρόσφυση των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο.
3. Η α<sub>x</sub> (CD11c/CD18) ή gp150/95,CR4, η οποία ευρίσκεται στα πολυμορφόπυρρηνα και στα μονοκύτταρα και αντιδρά με τον προσδέτη C3bi. Άλλες ιντεγκρίνες είναι οι α<sub>4</sub>β<sub>1</sub> και α<sub>4</sub>β<sub>7</sub> που κατά προτίμηση εκφράζονται

στα λεμφοκύτταρα και στα μονοκύτταρα και ανάλογα με το βαθμό διέγερσής τους προάγουν είτε το κύλισμα είτε τη σταθερή πρόσφυση στα ενδοθηλιακά κύτταρα αντιδρώντας με το VCAM-1 στους φλεγμαίνοντες ιστούς ή με το MadCAM-1 στις πλάκες του Payers.

Οι ιντεγκρίνες ενεργοποιούνται ταχύτατα αμέσως μετά τη διέγερση του κυττάρου και μεταπίπτουν από την κατάσταση της χαμηλής συγγένειας σε κατάσταση υψηλής συγγένειας προς τους προσδέτες τους. Οι ιντεγκρινικοί αυτοί υποδοχείς ενώνονται είτε με πρωτεΐνες εξωκυττάριας ουσίας, όπως το κολλαγόνο, οι φιβρονονεκτίνες και οι πρωτεογλυκάνες, είτε με μόρια κυττάρων μέσω των οποίων γίνεται η προσκόλληση κυττάρου προς κύτταρο. Κοινό χαρακτηριστικό των προσδετών των ιντεγκρινών είναι η παρουσία στο μόριό τους μίας μικρής πεπτιδικής ακολουθίας που εστιάζεται σε ένα υπόλοιπο ασπαρτικού ή γλουταμικού οξέος. Οι ακολουθίες αυτές δημιουργούν δύο θερμά σημεία, τα RGD και LDV, στην επιφάνεια των προσδετών. Τα σημεία αυτά χρησιμεύουν για την αναγνώριση του ιντεγκρινικού υποδοχέα. Από την πλευρά των ιντεγκρινικών υποδοχέων έχει διαπιστωθεί η ύπαρξη στις β-υπομονάδες θέσεων οι οποίες προάγουν τη σύνδεση με τον προσδέτη, ονομάζονται LIBS (Ligand Induced Binding Sites) και αλλάζουν τη δομή τους, όταν ενώνονται με τον προσδέτη. Τα RGD και LDV σημεία στην επιφάνεια των προσδετών προκαλούν μεταβολές σε θέσεις της β-υπομονάδας των ιντεγκρινών, ενώ συνεργικές ακολουθίες είναι υπεύθυνες για τις αλλαγές σχήματος στις α-υπομονάδες (14).

Κατά την αρχική φάση της φλεγμονής, οι ενεργοποιημένες ιντεγκρίνες των λευκοκυττάρων συνδέονται με μόρια προσκόλλησης όπως τα CAMs (Cell Adhesion Molecules: Μόρια κυτταρικής προσκόλλησης), τα οποία ανήκουν στην οικογένεια των ανοσοσφαιρινών και ευρίσκονται και στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Το γεγονός αυτό σταθεροποιεί την προσκόλληση των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο. Με τη σύζευξη προσδέτη-ιντεγκρίνης κινητοποιούνται στο εσωτερικό των λευκοκυττάρων βιοχημικές οδοί που συνδέονται, μεταξύ άλλων, με κινάσες του ενεργοποιημένου μιτογόνου (MAPK: Mitogen Activated Protein Kinases), με λιπιδικές κινάσες, με τυροσινικές κινάσες, με κυκλικά νουκλεοτίδια και με διακινήσεις ιόντων. Οι οδοί αυτές μεθοδεύουν το αποτέλεσμα της προσκόλλησης τόσο στο επίπεδο της κινητικότητας του λευκοκυττάρου όσο και στο επίπεδο της γονιδιακής του έκφρασης (4-6,14).

Στη συνέχεια τα ενδοθηλιακά κύτταρα συσπώνται, οι δεσμοί μεταξύ ιντεγκρινών και CAM σπάζουν και τα λευκοκύτταρα διέρχονται το ενδοθήλιο και οδεύουν προς το σημείο της φλεγμονής.



**Εικόνα 5.4: Σχηματική αναπαράσταση της επίδρασης μορίου φιβρονεκτίνης που δρα ως προσδέτης σε μόριο ιντεγκρίνης.** Σχηματική αναπαράσταση της αλληλεπίδρασης της φιβρονεκτίνης με τμήματα του μορίου της ιντεγκρίνης, τα οποία στη συνέχεια μεταβάλλουν τη στερεοχημική τους διάταξη και κινητοποιούν το βιοχημικό σήμα. Η προτεταμένη αγκύλη της φιβρονεκτίνης (κίτρινη, άνω δεξιά) συνδέεται σε ένα κατιόν (πράσινο, κάτω δεξιά) της β-υπομονάδας της ιντεγκρίνης. Παράλληλα, η επίπεδη αγκύλη (κίτρινη, άνω αριστερά) της φιβρονεκτίνης συνδέεται με μία θέση στη β επιφάνεια έλικας της α-υπομονάδας της ιντεγκρίνης. (μωβ, κάτω αριστερά).

*Trends Pharmacol. Sci.* 21:29-32 (2000)

### **ICAM-1 και ICAM-2**

Τα ICAM-1 και ICAM-2 ( Intracellular Adhesion Molecule) αποτελούν μέλη της υπεροικογένειας των ανοσοσφαιρινών (Ig: Immunoglobulin) και επάγονται μετά τη διέγερση των λευκοκυττάρων και των ενδοθηλιακών κυττάρων από παράγοντες όπως οι LPS, η IL-1 και ο TNF- $\alpha$ . Τόσο το ICAM-1 (CD54) όσο και το ICAM-2 (CD102) αντιδρούν με τις ιντεγκρίνες ρυθμίζοντας εν μέρει τις αντιδράσεις λευκοκυττάρων προς λευκοκύτταρα και λευκοκυττάρων προς ενδοθηλιακά κύτταρα. Η ιντεγκρίνη LFA-1 ( $\alpha_L\beta_2$ ) της ομάδας των ιντεγκρινών είναι ο υποδοχέας τόσο για το ICAM-1 όσο και για το ICAM-2. Ιδιαίτερα, το ICAM-1 προάγει πιο σταθερά μέσω των ιντεγκρινών της επιφάνειας των ουδετεροφίλων την προσκόλληση των τελευταίων στο ενδοθήλιο. Ο κλασικός υποδοχέας του ευρίσκεται στις ιντεγκρίνες CD11a/CD18 και CD11b/CD18 (8,15,16).

Το ICAM-2 είναι μία επιφανειακή ανοσοσφαιρίνη της τάξης των 60 kDa με δύο δίκην ανοσοσφαιρίνης εξωκυττάρια τμήματα. Η έκφραση του ICAM-2 στα ηρεμούντα λεμφοκύτταρα είναι πολλές φορές υψηλότερη από εκείνη του ICAM-1. Στα μονοκύτταρα τα δύο ICAM έχουν την ίδια έκφραση, ενώ στα ουδετερόφιλα το ICAM-2 δεν ανευρίσκεται. Στα ενδοθηλιακά κύτταρα η έκφραση του ICAM-2 είναι, όπως ήδη αναφέρθηκε, υψηλή, κυριαρχεί εκείνης του ICAM-1 σε καταστάσεις ηρεμίας και δεν επηρεάζεται από μία ποικιλία φλεγμονωδών κυτταροκινών, σε αντίθεση με ό,τι συμβαίνει με το ICAM-1. Τα ευρήματα αυτά συνηγορούν για βασικό ρόλο του ICAM-2 σε μη διεγερμένες καταστάσεις και πριν αυξηθεί η έκφραση του ICAM-1 (15).

Πιστεύεται ότι το ICAM-2 των ενδοθηλιακών κυττάρων προάγει την επανακυκλοφορία των T-λεμφοκυττάρων μνήμης και πιθανόν των λεμφοκυττάρων που εκφράζουν τον υποδοχέα LFA-1. Καθώς τα ηρεμούντα T-κύτταρα εκφράζουν λίγο ή καθόλου το ICAM-1, το ICAM-2 ίσως είναι σημαντικό για την αρχική προσκόλληση των κυττάρων αυτών με κύτταρα που φέρουν τον υποδοχέα LFA-1. Επίσης, η λύση ορισμένων κυττάρων στόχων φαίνεται ότι επέρχεται με έναν ανεξάρτητο του ICAM-1 τρόπο και πιθανόν μεθοδεύεται από το ICAM-2 (15).

Όσον αφορά το ICAM-1, η μελέτη σύνδεσής του με την ινεγκρίνη LFA-1 ( $\alpha_L\beta_2$ ) αποκαλύπτει την ύπαρξη ενδοεπιφάνειας μεταξύ τους. Το Mg<sup>2+</sup> της περιοχής I της ινετεγκρίνης διευθετεί απευθείας το Glu-34 του ICAM-1 με αποτέλεσμα να αιωρείται το υπόλειμμα Glu-241 της περιοχής αυτής και να καθιστά δυνατή τη δημιουργία μίας απαραίτητης γέφυρας αλάτων. Η σύνδεση προσδετών μπορεί να προκαλέσει δομικές αλλαγές, όπως ήδη αναφέρθηκε, στην περιοχή  $\alpha_L$  της ινετεγκρίνης. Επίσης, αλλοστερικά σήματα μπορούν να μετατρέψουν τις κλειστές διαμορφώσεις σε ενδιάμεσες ή ανοικτές, χωρίς να υπάρξει σύνδεση με προσδέτη (17).

### **VCAM-1**

Το VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule-1) ή CD106 είναι μία γλυκοπρωτεΐνη η οποία εκφράζεται ταχύτατα στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων μετά τη διέγερσή τους από την IL-1 ή τον TNF- $\alpha$ . Στη συνέχεια, το VCAM-1 μπορεί να ενωθεί με την αντίστοιχη ινετεγκρίνη, δηλαδή τον υποδοχέα VLA-4/ $\beta_1$  ο οποίος ευρίσκεται στην επιφάνεια των μονοκυττάρων και των λεμφοκυττάρων προκαλώντας την προσκόλλησή τους και ευνοώντας τη μετανάστευσή τους μέσα από το ενδοθήλιο. Το VCAM-1 ελέγχεται, όπως ήδη αναφέρθηκε, από τις κυτταροκίνες IIa/ $\beta$ , TNF- $\alpha$  και IIa-4 (8,16).

**PAF**

Ο ενεργοποιητικός παράγοντας των αιμοπεταλίων (PAF:Platelet Activating Factor) είναι ακετυλιωμένο στη sn-2 θέση φωσφολιπίδιο το οποίο περιέχει χολίνη. Το ιδιαίτερα δραστικό αυτό φωσφολιπίδιο δρα ως μεσολαβητής διεγείροντας κύτταρα της φλεγμονής. Αποτελεί χημειοτακτικό παράγοντα για τα ηωσινόφιλα, τα ουδετερόφιλα και τα μονοκύτταρα του αίματος. Ο παράγοντας αυτός εμπλέκεται ενεργά σε όλες τις εκδηλώσεις της φλεγμονής, όπως είναι η ερυθρότητα, το οίδημα και ο πόνος. Επίσης, ο συνδεόμενος με την επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων PAF δρα ως μόριο προσκόλλησης μεταξύ λευκοκυττάρων και αιμοπεταλίων (8).

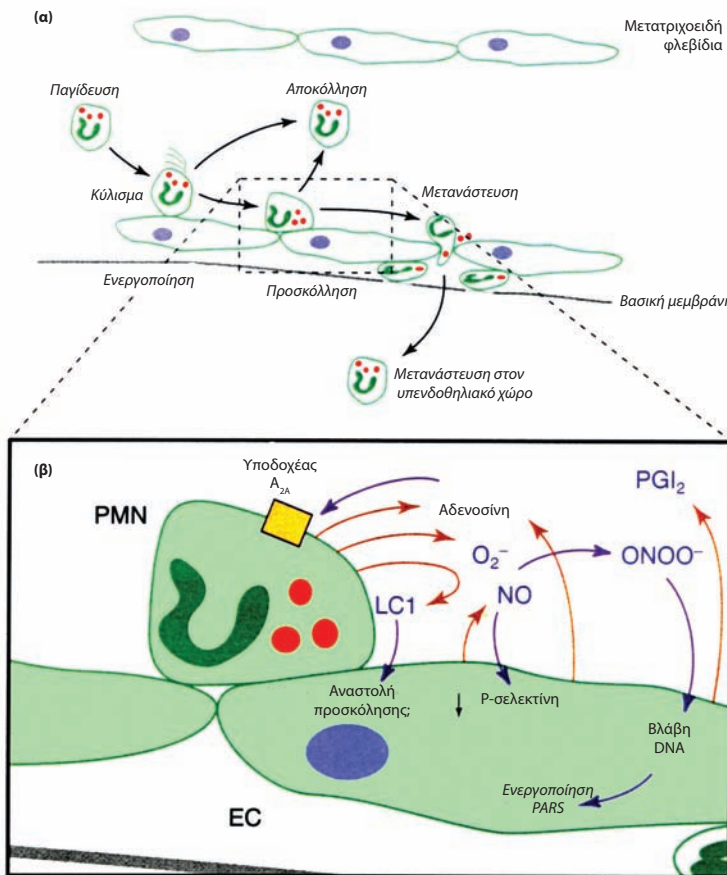
**PECAM-1**

Το μόριο προσκόλλησης PECAM-1 (Platelet Endothelial Adhesion Molecule) ή CD31 αποτελεί βασικό παράγοντα για τη μετανάστευση των ουδετερόφιλων λευκοκυττάρων δια του ενδοθηλίου. Πρόκειται για ένα μέλος της υπερικογενείας Ig της τάξης των 130 kD που κωδικοποιείται από ένα γονίδιο των 75 kb που ευρίσκεται στον μακρό βραχίονα του χρωμοσώματος 17. Εκφράζεται στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων, των ουδετεροφίλων, των μονοκυττάρων και εκλεκτικά στα T-κύτταρα. Επίσης είναι βασικό συστατικό των διαενδοθηλιακών συνδέσεων. Το εξωκυττάριο τμήμα του αποτελείται από 574 αμινοξέα και στα ενδοθηλιακά κύτταρα προάγει τα σήματα του ελεύθερου ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$  και την εκλεκτική φωσφορυλίωση της τυροσίνης. Διεγείρει τις ιντεγκρίνες αλλά απαντά και στη διέγερσή τους που μεθοδεύει τις αλληλεπιδράσεις κυττάρων προς κύτταρα και κυττάρων προς τις πρωτεΐνες στρώματος. Αποτελεί σημείο κλειδί στον καταρράκτη των αλληλεπιδράσεων προσκόλλησης που οδηγούν στην εξαγγείωση των λευκοκυττάρων κατά τη φλεγμονή. Η εξαρτώμενη από το PECAM-1 έκλυση  $H_2O_2$  από τα ουδετερόφιλα σε συνδυασμό με την αύξηση του ελεύθερου  $Ca^{2+}$  έχουν σημαντικό ρόλο στην αλληλεπίδραση των ουδετερόφιλων με τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Είναι γνωστό ότι το PECAM-1 μεθοδεύει επίσης στα ενδοθηλιακά κύτταρα τα σήματα του ελεύθερου ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$  και την εκλεκτική φωσφορυλίωση της τυροσίνης. Η πλήρης γνώση του ρόλου του θα βοηθήσει στην καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών της φλεγμονής, της ανοσιακής απόκρισης, της αιμόστασης και της θρόμβωσης (18,19).

Ανακεφαλαιωτικά και με βάση όσα είναι γνωστά, οι μηχανισμοί προσκόλλησης των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο έχουν ως εξής:

Η προσκόλληση των πολυμορφοκυττάρων στο ενδοθήλιο είναι το κύριο γεγονός κατά την οξεία φάση της φλεγμονής. Το πρώτο βήμα αφορά το κύλισμα των ουδετεροφίλων στο ενδοθήλιο που μεθοδεύεται από την αλληλεπίδραση της L-σελεκτίνης των πολυμορφοκυττάρων, της P-σελεκτίνης





**Εικόνα 5.5: Ενδογενείς παράγοντες που αναστέλλουν τις αλληλεπιδράσεις λευκοκυττάρων και ενδοθηλιακών κυττάρων. (α)** Υπό την επίδραση των σελεκτινών τα λευκοκύτταρα παγιδεύονται στο ενδοθήλιο και αρχίζουν να κυλούν πάνω σε αυτό. Στη φάση αυτή, τα λευκοκύτταρα ανιχνεύουν το ενδοθήλιο και μπορεί να διεγερθούν εφόσον υπάρχουν οι κατάλληλοι μεσολαβητές, όπως ο ενεργοποιητικός παράγοντας των αιμοπεταλίων (PAF: Platelet Activating Factor), η λευκοτριένη B<sub>4</sub> και οι ειδικές χημειοκίνες των λευκοκυττάρων. Η ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων οδηγεί στη σταθερή προσκόλλησή τους στο ενδοθήλιο, η οποία μεθοδεύεται από τις ιντεγκρίνες και τα άλλα μόρια προσκόλλησης της υπεροικογένειας των ανοσοσφαιρινών που προέρχονται από το ενδοθήλιο. Στη συνέχεια ακολουθεί η μετανάστευση των λευκοκυττάρων διά μέσου του ενδοθηλίου προς την ιστική βλάβη. Εάν απουσιάζουν από το ενδοθήλιο οι κατάλληλοι μεσολαβητές, τότε τα λευκοκύτταρα απαγκιστρώνονται από το ενδοθήλιο και ξαναπερνούν στην αιματική κυκλοφορία. **(β).** Αναπαράσταση ορισμένων από τους μεσολαβητές που απελευθερώνονται και δρουν στο μικροπεριβάλλον των προσκολλημένων λευκοκυττάρων. Μεσολαβητές (μπλε), βιολογική δράση (μαύρο), απελευθέρωση (καφέ βέλος), βιοχημική οδός (ερυθρό βέλος). PMN: πολυμορφοπύρρηνο λευκοκύτταρο, PGI<sub>2</sub>: Προστακυκλίνη, PARS: πολύ (ADP)ριβοζυλτρανφεράσες. LC1: Λιποκορτίνη 1, EC: Ενδοθηλιακό κύτταρο.

των αιμοπεταλίων και της E-σελεκτίνης των ενδοθηλιακών κυττάρων. Το κύλισμα αυτό ακολουθείται από την ενεργοποίηση των πολυμορφοπυρήνων από τις χημειοκίνες στη γειτονιά του ενδοθηλιακού γλυκοκύτταρου. Η ενεργοποίηση αυτή αυξάνει την τάση συνένωσης των  $\beta_2$  ιντεγκρινών (CD11a/CD18, LFA-1; CD11b/CD18, Mac1) με τους προσδέτες τους σταθεροποιώντας την προσκόλληση μέσα από αλληλεπιδράσεις με τα μόρια προσκόλλησης ICAM-1 και ICAM-2. Στα ενδοθηλιακά κύτταρα η έκφραση του ICAM-1, που είναι και ο αντιδρών υποδοχέας για τις ιντεγκρίνες CD11a/CD18 και CD11b/CD18 επάγεται από τις κυτταροκίνες  $\text{I}\alpha/\beta$ , TNF- $\alpha$  και IFN $\gamma$  (16).

Οι μηχανισμοί της προσκόλλησης των μονοκυττάρων στο ενδοθήλιο που χαρακτηρίζουν τη χρόνια φλεγμονή ακολουθούν ορισμένα βήματα. Το πρώτο βήμα αφορά το κύλισμα των μονοκυττάρων στο ενδοθήλιο που μεθοδεύεται από την αλληλεπίδραση της L-σελεκτίνης των μονοκυττάρων με τον προσδέτη της στο ενδοθηλιακό κύτταρο. Το κεντρικό βήμα αφορά την επίδραση της  $\beta_1$  ιντεγκρίνης VLA-4 (CD49d) των μονοκυττάρων με το αγγειακό μόριο προσκόλλησης VCAM-1 των ενδοθηλιακών κυττάρων, με αποτέλεσμα την παγίδευση των πρώτων στα δεύτερα. Το επόμενο βήμα αφορά την εξάπλωση των μονοκυττάρων στο ενδοθήλιο και μεθοδεύεται από την αντίδραση των  $\beta_2$  ιντεγκρινών με τα ICAM-1. Το τελευταίο βήμα της διάβασης του ενδοθηλίου μεθοδεύεται από πολλά μόρια όπως τα ICAM-1, VCAM-1 και PECAM-1 (16).

## **ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΠΟΣΠΑΣΗΣ ΤΩΝ ΛΕΥΚΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΑΠΟ ΤΟ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟ**

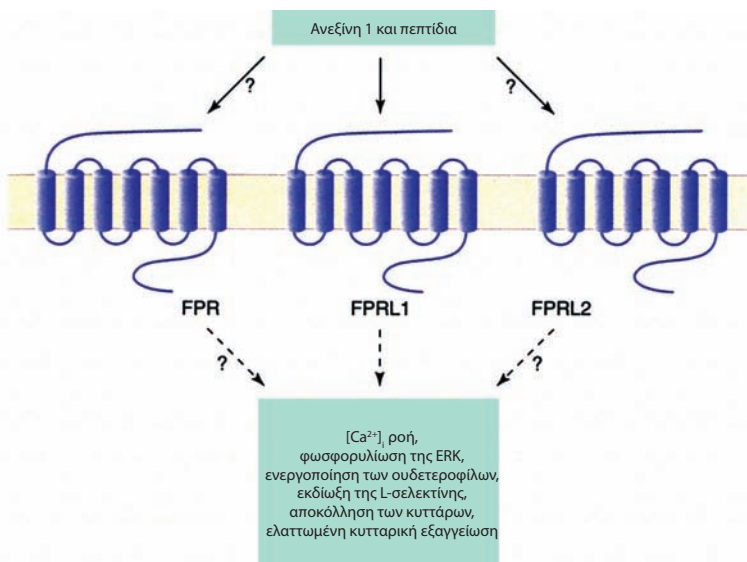
Πρωταγωνιστικό ρόλο στη διαδικασία αυτή παίζει μια πρωτεΐνη για την οποία έχει γίνει ήδη αναφορά σε άλλο κεφάλαιο. Η πρωτεΐνη αυτή ονομάζεται ανεξίνη 1. Η ανεξίνη 1 είναι μια πρωτεΐνη 37-kDa η οποία ανεφερόταν προηγουμένως ως λιποκορτίνη 1 και θεωρείται ότι μεθοδεύει πολλές από τις αντιφλεγμονώδεις δράσεις των γλυκοκορτικοειδών (11,12,20).

Η προσκόλληση του λευκοκυττάρου στο ενδοθήλιο αποτελεί και το ομόλογο ερέθισμα για την κινητοποίηση της ανεξίνης 1. Κατά τη φάση ηρεμίας, η ανεξίνη ευρίσκεται στο κυτταρόπλασμα του λευκοκυττάρου. Η προσκόλληση του λευκοκυττάρου στο ενδοθήλιο κατά την εξέλιξη της φλεγμονής προάγει μάλλον με μηχανισμό ελεγχόμενης εξωκύττωσης που εξαρτάται από τα  $\text{Ca}^{2+}$  την έξοδο της ανεξίνης 1 εκτός του κυττάρου και την προσκόλλησή της στην εξωκυττάρια επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης. Η δράση της επί του λευκοκυττάρου είναι αυτοκρινής, πιθανόν δε και παρακρινής.

Η δράση αυτή ασκείται μέσω υποδοχέα στην κυτταρική μεμβράνη των

λευκοκυττάρων. Οι υποδοχείς της ανεξίνης είναι επταδιαμεμβρανικοί συνδεόμενοι με τη G-πρωτεΐνη. Στον άνθρωπο έχουν εντοπισθεί τρεις τύποι υποδοχέων αυτού του είδους. Ο υποδοχέας FPR, για τον οποίο έχει γίνει ήδη αναφορά, και οι υποδοχείς FPRL1 (Formyl Peptide Receptor like 1) και FPRL2. Ο υποδοχέας FPRL1 είναι ο καλύτερα μελετημένος. Η έκφραση του υποδοχέα αυτού είναι αυξημένη στα ουδετερόφιλα που έχουν προσκολληθεί στο ενδοθήλιο.

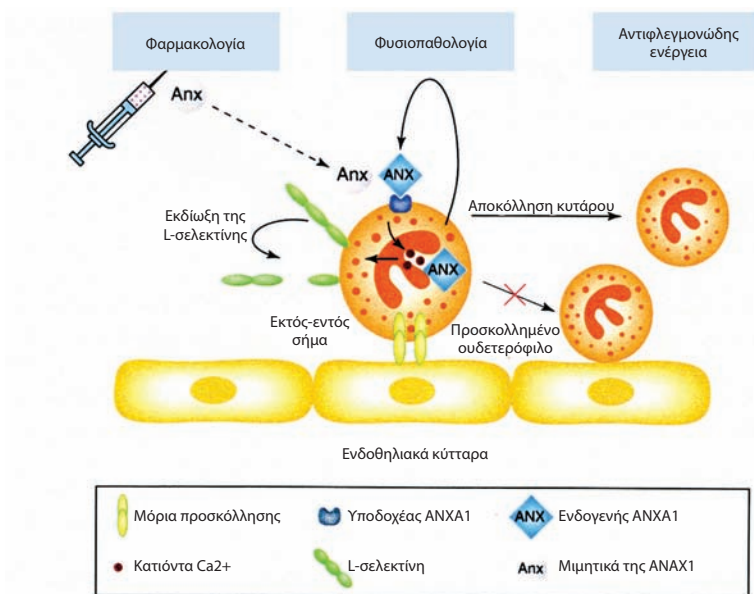
Ο υποδοχέας αυτός αντιδρά με ενδογενείς ουσίες όπως η αμυλοειδική πρωτεΐνη του ορού (SAA: Serum Amyloid Protein) και η λιποξίνη  $A_4$  ( $LXA_4$ ). Η ανεξίνη 1 έχει μικρότερη συγγένεια προς τον υποδοχέα αυτό από την  $LXA_4$  και ίση με την SAA. Η  $LXA_4$  και η SAA αναστέλλουν τη δράση μεταγραφικών παραγόντων που προάγουν την έκφραση προφλεγμονωδών γονιδίων. Ειδικότερα, η  $LXA_4$  προάγει την ενεργοποίηση ενός συν-κατασταλτικού παράγοντα, του NAB1, ο οποίος αποτελεί τμήμα του ρυθμιστικού κυκλώματος των γλυκοκορτικοειδών.



**Εικόνα 5.6: Μηχανισμός δράσης της ανεξίνης 1 στους υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης των ουδετερόφιλων λευκοκυττάρων.** Η διέγερση του υποδοχέα FPRL1 από την ανεξίνη και τα πεπτίδια που μιμούνται τη δράση της οδηγεί στην αύξηση του ενδοκυττάριου  $Ca^{2+}$  στο κυτταρόπλασμα των ουδετεροφίλων, στη φωσφορύλιωση της κινάσης ERK (Extracellular-signal Regulated Kinase), στην ενεργοποίηση των κυττάρων αυτών, στην εκδίωξη της L-σελεκτίνης, στην απόσπαση των λευκοκυττάρων από την ενδοθηλιακή επιφάνεια και στην αναστολή της εξαγγείωσής τους. Δεν είναι βέβαιο αν υπάρχει παρόμοια δράση και επί των υποδοχέων FPR και FPRL2.

*Trends Pharmacol. Sci.* 24: 574-580 (2003)

Σύμφωνα με τη θεωρία της απόσπασης (detachment hypothesis), η οποία στηρίζεται σε εργαστηριακά δεδομένα, η διέγερση του υποδοχέα FPRL1 από την ανεξίνη 1 και τα πεπτίδια που μιμούνται τη δράση της οδηγεί στην αύξηση του ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$  στο κυτταρόπλασμα των ουδετεροφίλων, στη φωσφορυλίωση της κινάσης ERK (Extracellular-signal Regulated Kinase), στην ενεργοποίηση των κυττάρων αυτών, στην εκδίωξη της L-σελεκτίνης, στην απόσπαση των λευκοκυττάρων από την ενδοθηλιακή επιφάνεια και στην αναστολή της εξαγγείωσής τους. Δεν είναι βέβαιο αν υπάρχει παρόμοια δράση και επί των υποδοχέων FPR και FPRL2.



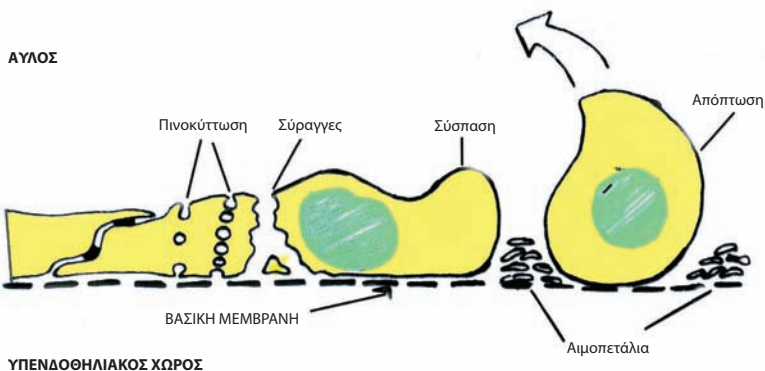
**Εικόνα 5.7: Μηχανισμός απόσπασης των λευκοκυττάρων από το ενδοθήλιο ως αποτέλεσμα της δράσης της ανεξίνης 1.** Η προσκόλληση του λευκοκυττάρου στο ενδοθήλιο αποτελεί και το ομόλογο ερέθισμα για την κινητοποίηση της ανεξίνης 1. Κατά τη φάση ηρεμίας, η ανεξίνη (ANX) ευρίσκεται στο κυτταρόπλασμα του λευκοκυττάρου. Σύμφωνα με τη θεωρία της απόσπασης (detachment hypothesis), η προσκόλληση του λευκοκυττάρου στο ενδοθήλιο κατά την εξέλιξη της φλεγμονής προάγει την έξοδο της ανεξίνης 1 εκτός του κυττάρου και την προσκόλλησή της στην εξωκυττάρια επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης. Η ανεξίνη 1 διεγείρει τον υποδοχέα της στην κυτταρική μεμβράνη του ίδιου λευκοκυττάρου (αυτοκρινής δράση) και πιθανόν παρακείμενων κυττάρων (παρακρινής δράση). Η διέγερση του υποδοχέα οδηγεί στην εκδίωξη της L-σελεκτίνης. Το αποτέλεσμα είναι η απόσπαση του λευκοκυττάρου από την ενδοθηλιακή επιφάνεια και η επαναφορά του στην αιματική κυκλοφορία. Η χορήγηση ουσιών (Anx) που θα μιμούνται την ανεξίνη 1 πιστεύεται ότι με ανάλογο μηχανισμό θα προαγάγει την απόσπαση των λευκοκυττάρων από την ενδοθηλιακή επιφάνεια και την εκ νέου απόδοσή τους στην αιματική κυκλοφορία. Αυτό θα αποτρέψει την πορεία τους προς την ιστική βλάβη.

*Trends Pharmacol. Sci.* 24: 574-580 (2003)

## ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΙΑΠΙΔΥΣΗΣ ΤΩΝ ΛΕΥΚΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΔΙΑ ΤΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ

Δεν είναι ακριβώς γνωστοί οι μηχανισμοί με τους οποίους τα λευκοκύτταρα περνούν μέσα από το ενδοθήλιο και εισέρχονται στους υποκείμενους ιστούς. Ισχυροί παράγοντες είναι το χημειοτακτικό ρεύμα και η σύσπαση των ενδοθηλιακών κυττάρων, η οποία αφήνει μεγαλύτερα διαστήματα μεσοκυττάρων χώρων και ελαττώνει τη στεγανότητα του ενδοθηλίου. Πιστεύεται ότι σημαντικό ρόλο στους μηχανισμούς αυτούς έχουν τα μόρια HEVCD44 και τα μόρια των γλυκοκαλύκων HEV που ευρίσκονται στο εξωκυττάριο στρώμα και που καλύπτουν το τοίχωμα των κυττάρων αυτών προβάλλοντας προς τα έξω. Επίσης, πιστεύεται ότι είναι απαραίτητη η έκφραση των μεταλλοπρωτεϊνικών στρώματος που είναι σε θέση να διαλύσουν την υποενδοθηλιακή μεμβράνη, η οποία είναι πλούσια σε μη ινώδες κολλαγόνο, ώστε να γίνει δυνατή η διείσδυση των λευκοκυττάρων (21).

Ορισμένα λευκοκύτταρα έχουν στην επιφάνειά τους τον υποδοχέα FPR, για τον οποίο έχει γίνει ήδη αναφορά. Πρόκειται για έναν επταδιαμεμβρانيκό υποδοχέα που απαντά στην κυτταρική μεμβράνη των φαγοκυτταρικών λευκοκυττάρων, όπως τα κοκκιοκύτταρα και τα μακροφάγα, και διεγείρεται από μικροβιακά ολιγοπεπτίδια. Το ενδοκυττάριο σήμα που παράγεται από τη διέγερση του υποδοχέα αυτού συνεργεί στο να αναπτύξουν τα κύτταρα αυτά την κινητικότητα που είναι απαραίτητη για να προσκολληθούν στο ενδοθήλιο και στη συνέχεια να περάσουν προς την ιστική βλάβη. Με τη διέγερση αυτή παρατηρείται μια ανακατανομή του κυτταροσκελετού της ακτίνης που είναι απαραίτητη για να μπορέσουν τα λευκοκύτταρα αυτά να



**Εικόνα 5.8: Μηχανισμοί διέλευσης δια του ενδοθηλίου.**

*Κ.Λ. Παπαδόπουλος (2005)*

ακολουθήσουν το χημειοτακτικό ρεύμα προς την ιστική βλάβη. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι ενδογενείς ουσίες λιποξίνη και λιποκορτίνη 1 ή ανεξίνη 1 αναστέλλουν τη μετανάστευση των πολυμορφοκυττάρων δρώντας στους υποδοχείς FPR, τους οποίους απευαισθητοποιούν. Ειδικότερα, η λιποκορτίνη 1, της οποίας τη γονιδιακή έκφραση προάγουν τα γλυκοκορτικοειδή, θεωρείται ως ο ενδογενής αγωνιστής των υποδοχέων αυτών που τους απευαισθητοποιεί έναντι των μικροβιακών ολιγοπεπτιδίων (11,12).

Ενδογενείς ουσίες που απελευθερώνονται κατά την αρχική φάση της φλεγμονής συσπών, μεταξύ άλλων, τα ενδοθηλιακά κύτταρα αυξάνοντας το μεσοκυττάριο διάστημα. Τα ανοίγματα που δημιουργούνται στο ενδοθήλιο και διευκολύνουν τη διάβαση των εμμόρφων στοιχείων οφείλονται κατά ένα μέρος στην αύξηση των μεσοκυττάρων διαστημάτων λόγω της σύσπασης των ενδοθηλιακών κυττάρων. Η ισταμίνη η οποία είναι μία ιδιαίτερα αγγειοδραστική ουσία και απελευθερώνεται στην αρχική φάση της φλεγμονής προκαλεί, μεταξύ άλλων, διαστολή των αγγείων και ιδιαίτερα των τριχοειδών και αύξηση της διαπερατότητάς τους λόγω σύσπασης των ενδοθηλιακών κυττάρων. Η θρομβοξάνη που συντίθεται και απελευθερώνεται τόσο από τα συρρέοντα αιμοπετάλια όσο και από τα ίδια τα ενδοθηλιακά κύτταρα, επίσης συσπά και τα τελευταία και αυτό συμβάλλει στην αύξηση της διαπερατότητας των τριχοειδών κατά την εξέλιξη της φλεγμονής. Τις ενέργειες αυτές τόσο στα αιμοπετάλια όσο και στα ενδοθηλιακά κύτταρα τις προκαλεί αυξάνοντας το ελεύθερο ενδοκυττάριο  $Ca^{2+}$  (22,23).

Η λευκοτριένη LTB<sub>4</sub>, για την οποία έχει γίνει ήδη αναφορά, είναι ένας ισχυρός χημειοτακτικός παράγοντας των πολυμορφοκυττάρων, των ηωσινοφίλων και των μονοκυττάρων, των οποίων προάγει την πρόσφυση στο ενδοθηλιακό τοίχωμα και τη διαμέσου αυτού μετανάστευσή τους προς την περιοχή της ιστικής βλάβης. Συμμετοχή έχουν, επίσης, η βραδυκινίνη, ο PAF και τα τμήματα C<sub>3a</sub> και C<sub>5a</sub> από την ενεργοποίηση του συμπληρώματος. Μεσολαβητές αυτού του μηχανισμού σε δεύτερη φάση είναι και ο TNF-α και η IL-1 (9,21,23).

Κλάσματα της θρομβίνης αντιδρούν με την καδχερίνη (cadherin) των ενδοθηλιακών κυττάρων και προάγουν την προσκόλληση και τη μετανάστευση των λευκοκυττάρων. Το ινωδογόνο και η ινική βοηθούν την προσπάθεια των ενδοθηλιακών κυττάρων με χημικούς και φυσικούς τρόπους. Τρία πεπτιδιά τους, τα F $\alpha$ B, F $\beta$ 1-42 και  $\beta$ 15-42 προάγουν τη διαδικασία αυτή χημικά, ενώ παράλληλα προάγουν και τη χημειοταξία των λευκοκυττάρων. Επίσης, καθώς το αναπτυσσόμενο σύμπλοκο ινικής και αιμοπεταλίων συρρικνώνεται, αναπτύσσεται τάση στις δομές όπου το σύμπλοκο αυτό έχει εγκατασταθεί. Αυτό βοηθεί την απαγκίστρωση του ενός ενδοθηλιακού κυττάρου από το αντίστοιχο γειτονικό του και με τον τρόπο αυτό προάγεται η

είσοδος νέων μορίων και κυττάρων από τον αγγειακό χώρο προς το χώρο της ιστικής βλάβης (24).

### **ΦΑΓΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ ΚΑΙ ΕΞΟΥΔΕΤΕΡΩΣΗ ΤΟΥ ΒΛΑΠΤΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ**

Η διέλευση των λευκοκυττάρων από το ενδοθήλιο και η άφιξή τους στο σημείο της ιστικής βλάβης είναι και ο απώτερος στόχος. Στα σημεία αυτά τα λευκοκύτταρα θα αναπτύξουν τις αντιμικροβιακές, εκκριτικές και φαγοκυτταρικές τους ιδιότητες και θα συμβάλουν στην ανάπτυξη της ανοσιακής απόκρισης. Τα μακροφάγα των ιστών, καθώς και από το αίμα τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα και τα μονοκύτταρα που μετατρέπονται σε μακροφάγα είναι τα φαγοκύτταρα κλειδιά κατά την ανάπτυξη του όλου φυσικού ανοσιακού μηχανισμού που αποτελεί την πρώτη φάση αντίδρασης του ανοσοποιητικού συστήματος του ανθρώπου στον ιστικό τραυματισμό. Παράλληλα, τα ίδια κύτταρα με την απομάκρυνση των αποπτωτικών κυττάρων συμβάλλουν στην ιστική αναδιαμόρφωση.

Η φαγοκυττάρωση είναι ως γνωστόν η διαδικασία κατά την οποία τα φαγοκύτταρα προσλαμβάνουν και φέρουν προς το εσωτερικό τους μικροοργανισμούς, αδιάλυτα σωματίδια, βλαφθέντα κύτταρα του ξενιστή, κυτταρικά κατάλοιπα, ενεργοποιημένους παράγοντες πήξης και άλλους μολυσματικούς παράγοντες. Η προσέλευση των φαγοκυττάρων ακολουθεί τοπικά χημειοτακτικά ρεύματα. Μεταξύ των χημειοτακτικών παραγόντων που δρουν άμεσα περιλαμβάνεται, όπως ήδη αναφέρθηκε, ο παράγοντας C5a που προέρχεται από την ενεργοποίηση του συμπληρώματος. Υπάρχουν όμως και έμμεσες δράσεις. Ο παράγοντας C3a, με όμοια προέλευση, και ο C5a ελευθερώνουν προσυντιθεμένους χημειοτακτικούς παράγοντες από τα σιτευτικά κύτταρα όπως είναι ο χημειοτακτικός παράγοντας των ηωσινοφίλων, ο χημειοτακτικός παράγοντας των ουδετεροφίλων και διάφορες λευκοτριένες.

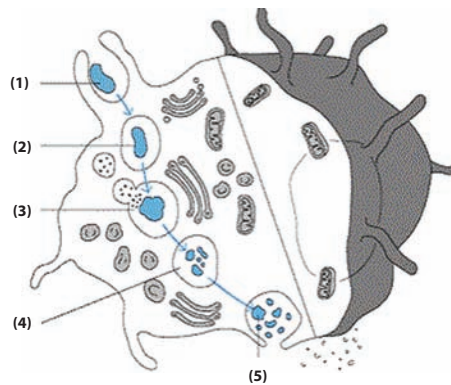
Πέντε είναι τα βήματα τα οποία διαδέχονται το ένα το άλλο κατά τη φαγοκυττάρωση. Πρώτο βήμα είναι η επαφή και πρόσδεση του ξένου σώματος στην επιφάνεια του φαγοκυττάρου. Δεύτερο βήμα είναι η πρόσληψη του ξένου παράγοντα. Αυτή γίνεται με εγκόλπωση και εισολκή της κυτταρικής μεμβράνης με σχηματισμό του φαγοσωματίου το οποίο οδεύει προς το λυσοσωμάτιο. Τρίτο βήμα είναι η συγχώνευση του φαγοσωματίου μέσα στο λυσοσωμάτιο, ο σχηματισμός του φαγολυσοσωματίου και η λύση του περιεχομένου του πρώτου. Τα κυτταροπλασματικά λυσοσωμάτια του φαγοκυττάρου περιέχουν μία ποικιλία μικροβιοκτόνων ουσιών, όπως οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και πεπτικά ένζυμα που διαλύουν το φαγοσωμάτιο. Τέ-

ταρτο βήμα είναι η πέψη του υλικού. Πέμπτο βήμα είναι η αποβολή από το κύτταρο των προϊόντων της πέψης. Ορισμένα πεπτιδία δεν αποβάλλονται, αλλά έρχονται και κατασκηώνουν σε σχισμές του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας τάξης II (MHC-class II: Major Histocompatibility Complex-class II) και παρουσιάζονται ως αντιγόνα (8).

### Φαγοκυτταρικοί μηχανισμοί

Η αντιμικροβιακή απάντηση των φαγοκυττάρων διεγείρεται από υποδοχείς τους οποίους φέρουν στην επιφάνειά τους και οι οποίοι αναγνωρίζουν είτε ειδικά σημεία στην επιφάνεια των μικροοργανισμών είτε τις οψωνίνες οι οποίες τα καλύπτουν. Οι υποδοχείς αυτοί, εκτός του ότι ενεργοποιούν τους μηχανισμούς της φαγοκυττάρωσης, ενεργοποιούν και την οξειδωτική έκκριση η οποία μεθοδεύεται μέσω της οξειδάσης της NADPH.

Μεταξύ των υποδοχέων αυτών περιλαμβάνεται η ομάδα των Fc-υποδοχέων (FcR: Fc –Receptors). Οι υποδοχείς αυτοί των λευκοκυττάρων είναι γλυκοπρωτεΐνες επιφάνειας οι οποίες συνδέονται με το τμήμα Fc της ανοσοσφαιρίνης Ig. Η IgG έχει ήδη συνδεθεί με τον μικροοργανισμό μέσω της περιοχής Fab η οποία υπάρχει στο μόριό της. Με τον τρόπο αυτό συνδέεται η αναγνώριση του αντιγόνου από τα αντισώματα με τους τοξικούς μηχανισμούς αμύνας κατά του εισβολέα που εδράζονται στα φαγοκύτταρα. Οι υποδοχείς αυτοί είναι βασικοί μεσολαβητές της οψωνινοφαγοκυττάρωσης και της εξαρτώμενης από τα αντισώματα και εκπορευόμενης από τα κύτταρα τοξικότητας (25).



**Εικόνα 5.9: Μηχανισμός φαγοκυττάρωσης κατά βήματα. (1).** Πρόσδεση του μικροοργανισμού στις μακρίες μεμβρανικές εισδοχές του φαγοκυττάρου που αποκαλούνται «ψευδοπόδια». **(2)** Πρόσληψη του μικροοργανισμού και σχηματισμός του φαγοσωματίου το οποίο κινείται προς το λυσοσωμάτιο. **(3)** Λύση στα σημεία επαφής λυσοσωματίου-φαγοσωματίου και είσοδος λυτικών ενζύμων στο φαγοσωμάτιο. **(4)** Πέψη του περιεχομένου του φαγοσωματίου. **(5)** Απελευθέρωση των προϊόντων πέψης από το φαγοκύτταρο.

Duane W. Sears - Internet (1997)



Η έκφραση ή η απουσία υποδοχέων στην επιφάνεια των κυττάρων προσδιορίζει κατά μεγάλο μέρος τον τροπισμό των περισσότερων ιών για τα κύτταρα όπου αυτοί μπορούν να αναπαραχθούν και τους καθιστά σημαντικούς παράγοντες για την παθογένεια διαφόρων νόσων. Ο πολυμορφισμός, επίσης, των FcR αποτελεί γενετικό παράγοντα που προσδιορίζει τη φαγοκυτταρική ικανότητα των λευκοκυττάρων και την ευαισθησία στην εμφάνιση διαφόρων παθήσεων του ανοσιακού συστήματος (25).

Ιδιαίτερο ενδιαφέρουν παρουσιάζουν οι FcγR, οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για τη φαγοκυττάρωση των στόχων που έχουν καλυφθεί με τις οψωνίνες IgG. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των περιοχών IgGFc, δηλαδή των περιοχών των οψωνινών που αναγνωρίζουν τον υποδοχέα FcγR, και του FcR γίνεται με μια διαδικασία που θυμίζει φερμουάρ (zipper close model) και με το μηχανισμό αυτό επιτυγχάνεται η επέκταση του φαγοκυτταρικού καλύπτρου κατά μήκος της επιφάνειας των οψωνινών. Η εγκόλπωση των συμπλεγμάτων αυτών πυροδοτείται με τη συσώρευση των FcγR στις περιοχές όπου τα φαγοκύτταρα κάνουν επαφή με τα οψωνινοποιημένα σωματίδια. Η διέγερση των FcγR προάγει την τοπική ενεργοποίηση της οικογένειας Src και της τυροσινικής κινάσης syk στην περιοχή του φαγοκυτταρικού καλύπτρου. Ακολουθεί η διέγερση της φωσφατιδυλινοσιτολικής-3-κινάσης (PI3K: Phosphatidylinositol-3- Kinase) και της φωσφολιπάσης C (PLC: Phospholipase C). Η σχηματιζόμενη 1,4,5 τριφωσφορική ινοσιτόλη (1,4,5 P<sub>3</sub>: Inositol 1,4,5 triphosphate) προάγει την αύξηση των ελεύθερων κυτταροπλασματικών Ca<sup>2+</sup> τα οποία με τη σειρά τους διεγείρουν τη Rac και την Cdc42 οι οποίες ανήκουν στην οικογένεια των Rho πρωτεϊνών. Οι τελευταίες είναι μικρομοριακές GTPάσες. Καθώς οι τελευταίες διεγείρονται, συντονίζουν την αναδιαμόρφωση της ακτίνης στην περιοχή της φαγοκυττάρωσης, γεγονός που καταλήγει στον εγκλωβισμό του μικροβίου ή του οιοιδήποτε άλλου στόχου στα ενδοκυττάρια κενοτόπια ή φαγοσωμάτια (26-28).

Οι κινήσεις αυτές στην επιφάνεια των φαγοκυττάρων εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τον πολυμερισμό της ακτίνης και την αναδιοργάνωσή της και εμπλέκουν μία ποικιλία από πρωτεΐνες οι οποίες συνδέονται με την ακτίνη και τις επι μέρους μυοσίνες. Ενώ όμως η επέκταση του φαγοκυτταρικού καλύπτρου γίνεται με μηχανισμό ανεξάρτητο της PI3K, οι συσπαστικοί μηχανισμοί που φέρουν το φαγοσωμάτιο σε επαφή με τους αντίστοιχους ενδοκυττάρους μηχανισμούς των φαγοκυττάρων εξαρτώνται από την PI3K. Η φαγοκυττάρωση συνοδεύεται από μια έκρηξη πινοκύττωσης υγρών στοιχείων τα οποία όμως περιορίζονται στην περιοχή που γειτονεύει με το φαγοκυτταρικό κάλυπτρο (26,27).

Πέραν των παραπάνω υποδοχέων, υπάρχουν και άλλοι φαγοκυτταρικοί υποδοχείς, όπως οι υποδοχείς μαννόζης, οι οποίοι αναγνωρίζουν μόρια μα-

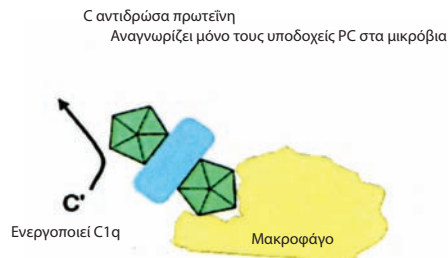
νόζης και φουκόζης που ευρίσκονται στα γλυκολιπίδια και στις γλυκοπρωτεΐνες των μικροοργανισμών και όχι στα κύτταρα του ξενιστή. Επίσης υπάρχουν οι υποδοχείς συμπληρώματος και οι υποδοχείς μη ειδικών οψωνινών (CD35, CD11c/CD18) που αναγνωρίζουν μικροοργανισμούς καλυμμένους με κλάσματα του συμπληρώματος ή με άλλες οψωνίνες όπως το ινωδογόνο, η φμπρονεκτίνη και η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη. Τέλος, αναφορά γίνεται και στους υποδοχείς αποκομιδής ή εκκαθαριστές (scavenger receptors), μέσω των οποίων η oxLDL αλλά και μικροοργανισμοί εισέρχονται στο κύτταρο (29).

Τα ουδετερόφιλα είναι τα πρώτα κύτταρα του αίματος που φθάνουν στην περιοχή της ιστικής βλάβης λόγω της ιδιότητάς να αντιδρούν με ταχύτητα στα μικροβιακά πεπτίδια και στις φλεγμονογόνες κυτταροκίνες. Μόλις φθάσουν στην περιοχή της ιστικής βλάβης αναπτύσσουν τη δράση τους η οποία περιλαμβάνει τη φαγοκυττάρωση των μικροοργανισμών, τη σύνθεση ελεύθερων οξειδωτικών ριζών, την απελευθέρωση κυτταροκινών και την εκβολή κοκκίων του κυτταροπλάσματός τους που περιέχουν λυτικά ένζυμα. Ακολουθούν τα μονοκύτταρα του αίματος τα οποία φέρουν το κύριο βάρος στο όλο έργο της φαγοκυττάρωσης.

Ειδικές πρωτεΐνες του πλάσματος ή των λευκοκυττάρων καθώς και διάφοροι άλλοι παράγοντες συμβάλλουν στην εξέλιξη της φαγοκυττάρωσης. Οι κυριότεροι από αυτούς περιγράφονται στη συνέχεια.

### **C - Αντιδρώσα Πρωτεΐνη**

Κατά τη διάρκεια της φλεγμονής, το ήπαρ διεγείρεται από τις φλεγμονογόνες κυτταροκίνες II-1, II-6 και TNF-α και συνθέτει τις πρωτεΐνες οξείας φάσης. Μεταξύ αυτών συγκαταλέγονται η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP: C Reactive Protein), τα αμυλοειδή του ορού A και P, η πρωτεΐνη που συνδέεται με τους



**Εικόνα 5.9: Σύνδεση της CRP (C Reactive Protein: C Αντιδρώσα Πρωτεΐνη) στην επιφάνεια των μακροφάγων.** Η σύνδεση γίνεται μέσω των υποδοχών PC των μακροφάγων. Η σύνδεση αυτή προάγει τους μηχανισμούς που έχουν σχέση με την κάθαρση από τους μικροοργανισμούς που μεθοδεύεται από τη φαγοκυττάρωση και συγκεκριμένα από τους υποδοχείς Fcγ και την ενεργοποίηση του συμπληρώματος.

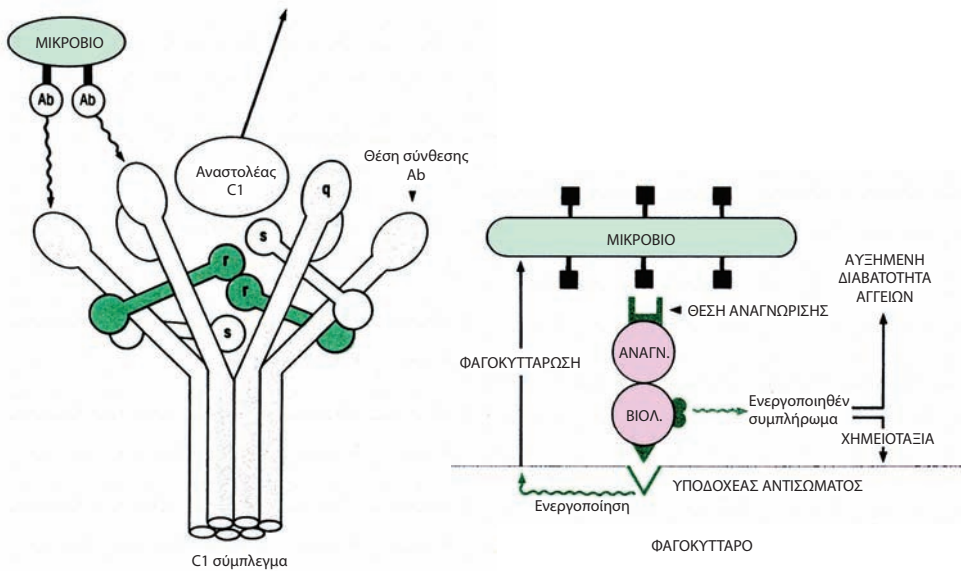
Internet - Medline (2005)

λιποπολυσακχαρίδες (LBL: Lipopolysaccharide Binding Protein), η αιμοπηξίνη, η απτοσφαιρίνη, τα συμπληρώματα C3 και C9, η α1-acd γλυκοπρωτεΐνη, η α2- μακροσφαιρίνη και ορισμένες πρωτεάσες (30).

Η CRP είναι μία πρωτεΐνη του πλάσματος η οποία συμμετέχει στην ανοσιακή αντίδραση. Συνδέεται κατά ασβεστιοεξαρτώμενο τρόπο με το τμήμα PC του μικροβιακού τοιχώματος και προάγει την κάθαρση από τους μικροοργανισμούς που μεθοδεύεται από τη φαγοκυττάρωση και συγκεκριμένα από τους υποδοχείς Fcγ και την ενεργοποίηση του συμπληρώματος. Είναι γνωστό ότι μετρίως αυξημένα επίπεδα της CRP δηλώνουν επιρρέπεια σε έμφραγμα του μυοκαρδίου, περιφερειακή αρτηριακή νόσο και αιφνίδιο θάνατο (31).

**Οψωνίνες**

Πρόκειται για ειδικές πρωτεΐνες του πλάσματος οι οποίες διευκολύνουν τη φαγοκυττάρωση. Οι ουσίες αυτές καλύπτουν τους προς φαγοκυττάρωση στόχους καθιστώντας τους λεία των λευκοκυττάρων. Στη συνέχεια ενώνο-



**Εικόνα 5.11: Κλασικός μηχανισμός δράσης του αντισώματος και του συμπληρώματος κατά τη φαγοκυττάρωση. Αριστερά: Ενεργοποίηση της κλασικής οδού του συμπληρώματος.** Όταν το σύμπλεγμα μικροβίου ή αντιγόνου με το αντίσωμα έλθει σε επαφή με τα αντίστοιχα σημεία σύνδεσης του συμπληρώματος με το αντίσωμα, τότε το συμπλήρωμα ενεργοποιείται. Ανασταλτικοί μηχανισμοί εμποδίζουν την αυτόματη ενεργοποίηση του συμπληρώματος. Ab: αντίσωμα, C: συμπλήρωμα. **Δεξιά: Σχηματική παράσταση του μορίου προσαρμογής του αντισώματος.** Το τμήμα με βιολογική δράση (ΒΙΟΛ) του μορίου του αντισώματος που ενεργοποιεί το συμπλήρωμα και το φαγοκύτταρο είναι σταθερό. Το τμήμα το αντισώματος το οποίο φέρει τη μονάδα αναγνώρισης (ΑΝΑΓΝ) του μικροβίου ποικίλλει από το ένα αντίσωμα στο άλλο.

Roit I: Principles of Essential Immunology (1991)

νται με ειδικούς υποδοχείς στην επιφάνεια των λευκοκυττάρων και διευκολύνουν την προσκόλληση των τελευταίων στους παραπάνω στόχους οι οποίοι στη συνέχεια θα εξουδετερωθούν με φαγοκυττάρωση. Κατά τη διάρκεια της προσκόλλησης των οψωνινών στα λευκοκύτταρα πυροδοτείται η αντίδραση «ερέθισμα-απάντηση» και διεγείρονται παρακρινώς τα τελευταία. Μεταξύ των άλλων, πυροδοτείται και η αναπνευστική έκρηξη η οποία οδηγεί στη σύνθεση οξειδωτικών ριζών (6, 8).

Μεταξύ των κυριότερων οψωνινών περιλαμβάνονται το κλάσμα C3b του ενεργοποιημένου συμπληρώματος και η ανοσοσφαιρίνη IgG.

Από αυτές, το C3b προέρχεται από τη σχάση της πρωτεΐνης C3 του συμπληρώματος. Εκτός από την οψωνοποίηση, προκαλεί πολυμερισμό άλλων συστατικών στη μεμβράνη του εισβολέα παθογόνου, τα οποία σχηματίζουν το σύμπλεγμα προσβολής της μεμβράνης και έτσι ξεκινά η λύση του μικροβίου.

Η ανοσοσφαιρίνη IgG ανήκει στα αντισώματα. Αυτά είναι γ-σφαιρίνες (Ig: Immunoglobulin) και έχουν M.B. που κυμαίνεται από 160.000 έως 970.000. Αποτελούν το 20% των πρωτεϊνών του πλάσματος. Διακρίνονται σε πέντε κατηγορίες: Είναι η IgM, η IgG, η IgA, η IgI και η IgE ανοσοσφαιρίνες. Τα αντισώματα δρουν με δύο μηχανισμούς. Με απευθείας επίθεση στο αντιγόνο και με την ενεργοποίηση του συμπληρώματος.

### **Εκκρινικά οργάνυλια**

Η καταστροφή των μικροβίων μετά τη φαγοκυττάρωση γίνεται και με τη δράση τοξικών ενζύμων τα οποία περιέχονται σε ειδικά εκκρινικά οργάνυλια ή κοκκία στο κυτταρόπλασμα των φαγοκυττάρων. Η μυελοϋπεροξειδάση είναι ένα ένζυμο το οποίο ευρίσκεται στα κοκκία των ουδετερόφιλων λευκοκυττάρων και μετατρέπει το υπεροξειδίο του υδρογόνου σε ρίζα του υποχλωριώδους οξέος. Η τελευταία είναι ιδιαίτερα βακτηριοκτόνος και η μετατροπή αυτή γίνεται στα φαγολυσσώματα παρουσία χλωρίου και μονήρους πρωτονίου H<sup>+</sup>. Το υπεροξειδίο του υδρογόνου προέρχεται από τη μετατροπή του σχηματιζόμενου στην αρχή από την αναπνευστική έκρηξη υπεροπεροξειδικού ανιόντος. Όταν δεν γίνεται οξειδωση, τότε η λυσοζύμη που ευρίσκεται στα κοκκία των ουδετερόφιλων λευκοκυττάρων μπορεί να σχηματίσει τρύπες στη μικροβιακή μεμβράνη (8).

Ενδιαφέρουσες είναι ορισμένες λεπτομέρειες που αφορούν τα ουδετερόφιλα λευκοκύτταρα. Αυτά διαθέτουν τεσσάρων ειδών εκκρινικά οργάνυλια. Τα πρωτεύοντα οργάνυλια χαρακτηρίζονται από την παρουσία των CD63 στην επιφάνειά τους και περιέχουν τη μυελοϋπεροξειδάση και λυσοσωμιακές υδρολάσες. Τα δευτερεύοντα εκφράζουν στην επιφάνειά τους τα CD66b και περιέχουν λακτοφερίνη και λυσοζύμη. Τα τριτεύοντα οργάνυλια

περιέχουν τη ζελατινάση και, τέλος, τα εκκριτικά κυστίδια είναι πλούσια σε λευκωματίνη και αλκαλική φωσφατάση. Η απελευθέρωση των ενζύμων αυτών δεν γίνεται συγχρόνως απ' όλα τα οργανύλια. Αυτό εξαρτάται από το είδος του βιοχημικού σήματος που θα φθάσει έως αυτά και από τον ουδό ενεργοποίησης (26).

Ενώ η φαγοκυττάρωση εξαρτάται από την αναδιαμόρφωση του κυτταροσκελετού της ακτίνης, η έκκριση από τα οργανύλια μεθοδεύεται από τη διάσπαση του σκελετού αυτού. Η εξωκύτωση των εκκριτικών οργανυλίων προσφέρει επιπρόσθετη επιφάνεια στη μεμβράνη στόχο. Οι υποδοχείς FcγR οι οποίοι μεθοδεύουν τη φαγοκυττάρωση στα ουδετερόφιλα λευκοκύτταρα συγχρόνως μεθοδεύουν και την πινοκύτωση των συστατικών της εκκριτικής μηχανής, ώστε αυτά να ξαναχρησιμοποιηθούν. Αυτό γίνεται στις περιοχές σχηματισμού των φαγοσωματίων (26).

### **Οξειδωτικοί παράγοντες**

Οι οξειδωτικοί παράγοντες συντίθενται σε μεγάλες ποσότητες από τα διεγερμένα λευκοκύτταρα κατά την εξέλιξη της φλεγμονής. Αποτελούν ένα από τα μικροβιοκτόνα όπλα των λευκοκυττάρων, πλην όμως η ανεξέλεγκτη παραγωγή και διαφυγή προς τους ιστούς, ιδιαίτερα στις χρόνιες φλεγμονές, αποτελεί πρόβλημα.

Οι οξειδωτικοί παράγοντες διακρίνονται στις ελεύθερες οξειδωτικές ρίζες (EOP) και στις οξειδωτικές ενώσεις. Οι κυριότερες EOP είναι το υπεροξειδικό ανιόν ( $O_2^-$ ), η υδροϋπεροξειδική ρίζα ( $HO_2$ ), η υδροξυλική ρίζα (OH) και η λιπούπεροξειδική ρίζα ( $LO_2$ ). Στις ενδιαφέρουσες βιολογικά οξειδωτικές ενώσεις ανήκουν το υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) και το υποχλωριώδες οξύ (HClO) (32,33).

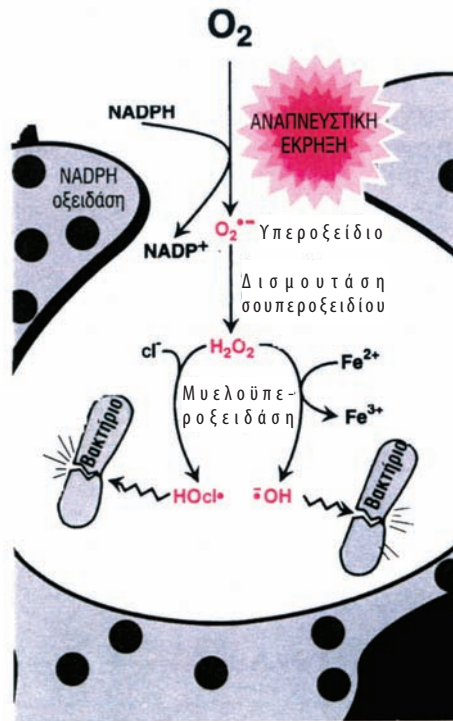
Οι EOP είναι θραύσματα μορίων που περιέχουν ασύζευκτο ηλεκτρόνιο και οι οξειδωτικές ενώσεις είναι μόρια τα οποία έχουν την τάση αυτόματα ή καταλυτικά να διασπώνται σε θραύσματα φέροντα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο, μετατρέπόμενα πρόσκαιρα σε ελεύθερες ρίζες.

Υπό φυσιολογικές συνθήκες, οι EOP παράγονται σε μικρές ποσότητες κατά το μεταβολισμό των κυττάρων του οργανισμού. Εξυπηρετούν σκοπούς ζωτικής σημασίας, όπως είναι ο μεταβολισμός των λιπιδίων, η βιοσύνθεση των προσταγλανδινών και των λευκοτριενών, η φαγοκυττάρωση και η ανοσοποιητική απόκριση.

Η οξειδάση της NADPH των ουδετεροφίλων έχει επίσης σημαντικό ρόλο στη μη ειδική ανοσιακή άμυνα ή φυσική ανοσιακή απόκριση ενάντια στα παθογόνα, καθώς συνθέτει μεγάλες ποσότητες EOP κατά τη διάρκεια της αποκαλούμενης «αναπνευστικής έκρηξης». Η οξειδάση NADPH αποτελείται από το κυτόχρωμα b558 που συνδέεται με τη μεμβράνη και από τέσσερις

το λιγότερο υπομονάδες, τις p47-phox, p67-phox, p40-phox, p21rac1 και Rap1. Το κυττόχρωμα b558 θεωρείται από πλευράς ενζυμικής σταθερότητας και ενεργότητας το βασικότερο συστατικό, καθώς ανάγει το μοριακό οξυγόνο σε υπεροξειδικό ανιόν. Το κυττόχρωμα b558 είναι ουσιαστικά ένα ετεροδιμερές που αποτελείται από την α-υπομονάδα, δηλαδή την p22-phox που είναι φαγοκυτταρική οξειδάση, και την ισχυρά γλυκοζυλιωμένη β-υπομονάδα, δηλαδή τη gp91-phox. Υπό συνθήκες ηρεμίας, η οξειδάση της NADPH ευρίσκεται εν υπνώσει, πλην όμως μπορεί αστραπιαία να ενεργοποιηθεί μετά από υποδοχοεξαρτώμενα και μη ερεθίσματα (34,35).

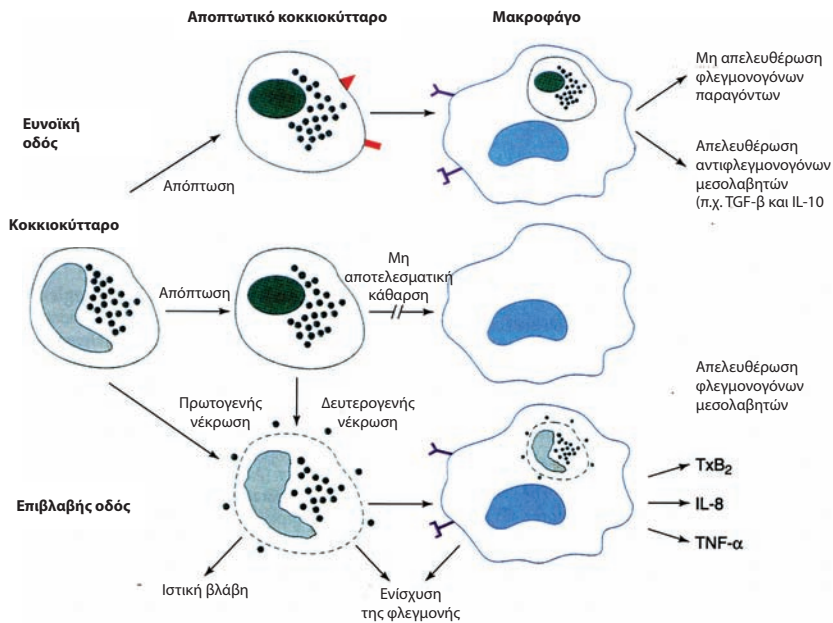
Μεταξύ των παθολογικών καταστάσεων που συνδέονται με την αυξημένη βλαπτική δράση των ΕΟΡ περιλαμβάνονται, όπως ήδη αναφέρθηκε, και οι φλεγμονώδεις παθήσεις. Στα διεγερθέντα λευκοκύτταρα, η ενεργοποίηση της οδού των μονοφωσφορικών εξοζών οδηγεί σε αυξημένη ενδοκυττάρια συγκέντρωση αναγωγικών ισοδυνάμων όπως η NADPH. Η τελευταία



**Εικόνα 5.12: Σύνθεση ελεύθερων οξειδωτικών ριζών από τα φαγοκύτταρα.** Κατά τη φάση της φαγοκυττάρωσης, η οξειδωμένη NADPH των κυτταρικών μεμβρανών μετατρέπεται το οξυγόνο των ιστών σε υπεροξειδικό ανιόν ή σουπεροξειδίο. Οι σχηματιζόμενες ελεύθερες ρίζες οξυγόνου συμβάλλουν στην εξουδετέρωση των μικροβίων.

A. Διονυσίου-Αστερίου. Βιοχημεία στην Ιατρική (2004)

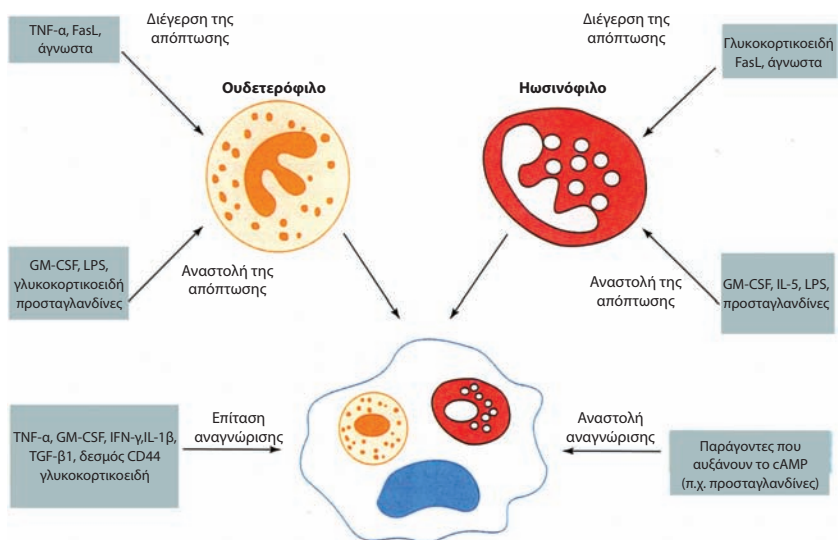
οξειδώνεται από μια συνδεδεμένη με το πλάσμα οξειδάση αποδίδοντας υπεροξειδικό ανιόν το οποίο με τη σειρά του και με την επίδραση της υπεροξειδικής δισμουτάσης σχηματίζει υπεροξείδιο του υδρογόνου. Με την αντίδραση του τελευταίου με το O<sub>2</sub> (αντίδραση Haber-Weiss) ή με Fe<sup>2+</sup> (αντίδραση Fenton) σχηματίζεται η ιδιαίτερα δραστική υδροξυλική ρίζα. Από το υδροξύλιο παράγεται επίσης η ιδιαίτερα μικροβιοκτόνος ρίζα του υποχλωριώδους οξέος (36).



**Εικόνα 5.13: Σχηματική παράσταση των οδών απομάκρυνσης των κοκκιοκυττάρων.**

Τα λευκοκύτταρα της κοκκιδώδους σειράς που οδηγούνται σε απόπτωση, στη συνέχεια φαγοκυτταρώνονται από τα μακροφάγα κατά μη φλεγμονώδη τρόπο. Δεν απελευθερώνονται φλεγμονογόνοι μεσολαβητές αλλά τουναντίον ισχυροί αντιφλεγμονώδεις παράγοντες όπως ο TGF-β (Transforming Growth Factor-β: Μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας-β) και η IL-10 (Interleukin 10: ιντερλευκίνη 10). Εάν τα λευκοκύτταρα της κοκκιδώδους σειράς γίνουν αποπτωτικά και δεν υπάρξει φαγοκυττάρωση, τότε υπάρχει πάντα ο κίνδυνος να υπάρξει δευτερογενής νέκρωση. Το ίδιο μπορεί να συμβεί και στο διάστημα που μεσολαβεί ώστε να αρχίσει η φαγοκυττάρωση. Όταν τα κύτταρα μεταπέσουν σε νεκρωτικά, τότε έχουν τη δυνατότητα να προκαλέσουν ιστική βλάβη, ενώ απελευθερώνοντας φλεγμονογόνους μεσολαβητές ενισχύουν την υπάρχουσα φλεγμονώδη αντίδραση. Η φαγοκυττάρωση των νεκρωτικών κυττάρων από τα μακροφάγα έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση από αυτά φλεγμονογόνων μεσολαβητών όπως η TxB<sub>2</sub> (Thromboxane B<sub>2</sub>: θρομβοξάνη B<sub>2</sub>) και ο TNF-α (Tumor Necrosis Factor-α: Νεκρωτικός των Ογκων Παράγοντας-α).

*Trends Pharmacol. Sci. 20:503-509 (1999)*



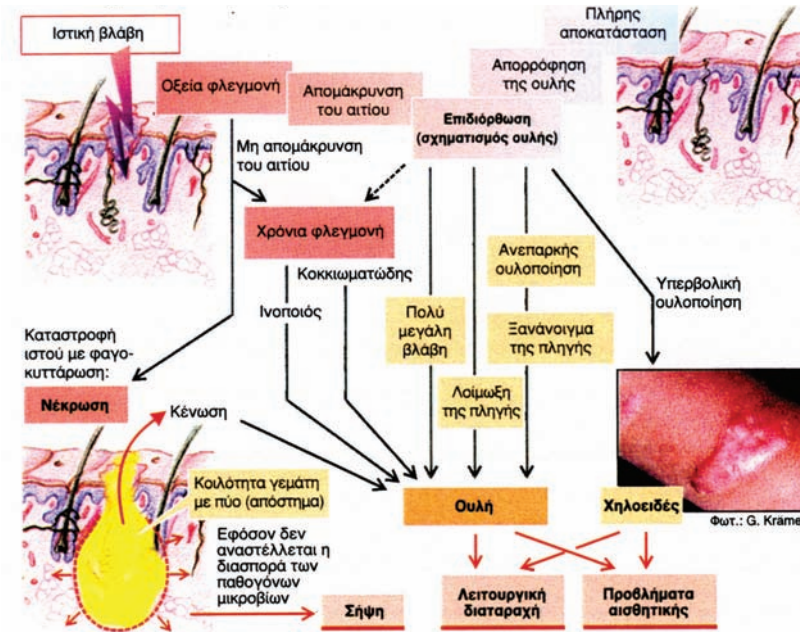
**Εικόνα 5.14: Παράγοντες που επηρεάζουν την κάθαρση των κυττάρων της φλεγμονής.** Στα παραλληλόγραμμα καταγράφονται οι παράγοντες που διεγείρουν και οι παράγοντες που αναστέλλουν την απόπτωση των ουδετερόφιλων και των ηωσινοφίλων λευκοκυττάρων. Επίσης καταγράφονται οι παράγοντες που προάγουν και εκείνοι που αναστέλλουν την αναγνώρισή τους από τα φαγοκύτταρα.

*Trends Pharmacol. Sci. 20:503-509 (1999)*

Η κυτταρική βλάβη οφείλεται κυρίως σε διαταραχές του μεταβολισμού όπως η υπεροξειδωση των λιπαρών οξέων, ο αποπολυμερισμός των πολυσακχαριδών και η εκφύλιση των πρωτεϊνών. Οι EPO προκαλούν αδρανοποίηση ή ενεργοποίηση ενζύμων, διαταραχές στην οξειδωτική φωσφορυλίωση και εξάντληση των αναγωγικών αποθεμάτων. Είναι υπεύθυνες για τη βλάβη και ρήξη των κυτταρικών μεμβρανών και την αλλοίωση των λειτουργιών που επιτελούνται σε αυτές, την καταστροφή των δομικών στοιχείων των κυττάρων, την αποδιοργάνωση του ενδοκυττάρου μεταβολισμού, την έξοδο των λυσοσωμιακών ενζύμων και την απελευθέρωση του ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$ . Πέραν των ενεργειών των EPO στον αγγειακό τόνο που είναι ως επί το πλείστον αγγειοσυσπαστικές, οι EPO αντιδρούν με ενδοκυττάρια βιοχημικές οδούς που επηρεάζουν τόσο την έκφραση μορίων προσκόλλησης όσο και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και την αγγειογένεση. Προκαλούν επίσης βλάβες του γενετικού υλικού. Με τις παραπάνω δράσεις, οι EPO ασκούν μεν αντιμικροβιακή δράση, αλλά συγχρόνως υπάρχει ο κίνδυνος προσβολής και των υγιών κυττάρων (37).

Το τελευταίο συμβαίνει στις περιπτώσεις όπου μια φλεγμονή δεν είναι δυνατόν να αναχαιτισθεί. Τότε τα μονίμως διεγερμένα λευκοκύτταρα παρά-





**Εικόνα 5.15: Διαταραχές και επακόλουθα της φλεγμονής.** Η φλεγμονώδης αντίδραση μπορεί να οδηγήσει είτε στην εξουδετέρωση του βλαπτικού παράγοντα και επούλωση είτε σε αδυναμία αντιμετώπισης αυτού με αποτέλεσμα το θάνατο του ξενιστή ή την ανάπτυξη χρόνιας φλεγμονής. *Silbernagl St., Lang F.: Εικονογραφημένο εγχειρίδιο Παθολογίας. Ιατρικές & Επιστημονικές Εκδόσεις Σιώκη (2002)*

γουν και αποδίδουν διαρκώς στους πέριξ ιστούς διάφορες ΕΡΟ. Το αποτέλεσμα είναι ότι οι λειτουργικές και μορφολογικές διαταραχές που περιγράφθηκαν παραπάνω επεκτείνονται και στα γειτονικά κύτταρα, με αποτέλεσμα τη δυσλειτουργία τους και τελικά το θάνατό τους. Συγχρόνως, τα κύτταρα αυτά μετατρέπονται σε βλαπτικό ή θανατηφόρο παράγοντα για τα γειτονικά τους κύτταρα και με τον τρόπο αυτό δημιουργείται ένας φαύλος κύκλος ο οποίος οδηγεί σε χρονιότητα της φλεγμονής (38).

### ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ

Η μελέτη αυτή αποσκοπεί στο να παρουσιάσει την προσπάθεια η οποία γίνεται στον ερευνητικό τομέα για τη δυνατότητα φαρμακολογικής παρέμβασης τόσο κατά την πορεία των λευκοκυττάρων προς την περιοχή της ιστικής βλάβης όσο και κατά τη δράση των τελευταίων στην περιοχή αυτή. Επειδή οι παρεμβάσεις στο επίπεδο των κυτταροκινών στις οποίες συμπεριλαμβά-

νονται και οι χημειοκίνες υπήρξαν αντικείμενο άλλου κεφαλαίου, δεν θα γίνουν πρόσθετες αναφορές στο θέμα αυτό. Ως εκ τούτου, η προσπάθεια θα επικεντρωθεί στις δυνατότητες παρεμβάσεων στο επίπεδο των μορίων προσκόλλησης και στις συνέπειες που προκύπτουν από τη φαγοκυτταρική δράση ορισμένων από τα λευκοκύτταρα αυτά.

Πολλά από τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται σήμερα για την αντιμετώπιση της φλεγμονής παρεμβαίνουν άμεσα ή έμμεσα στη λειτουργία των μορίων προσκόλλησης. Μεταξύ αυτών, τα γλυκοκορτικοειδή, τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη και τα αντιοξειδωτικά φάρμακα ελαττώνουν εν μέρει τη γονιδιακή έκφραση των χημειοκινών και των CAMs. Αυτό γίνεται διότι δρουν ανασταλτικά στον φλεγμονογόνο μεταγραφικό παράγοντα NF-κΒ (Nuclear Factor-κΒ). Σχετικά πρόσφατα έχει διαπιστωθεί ότι οι στατίνες δρουν ανασταλτικά στην διέγερση των ιντεγκρινών (13).

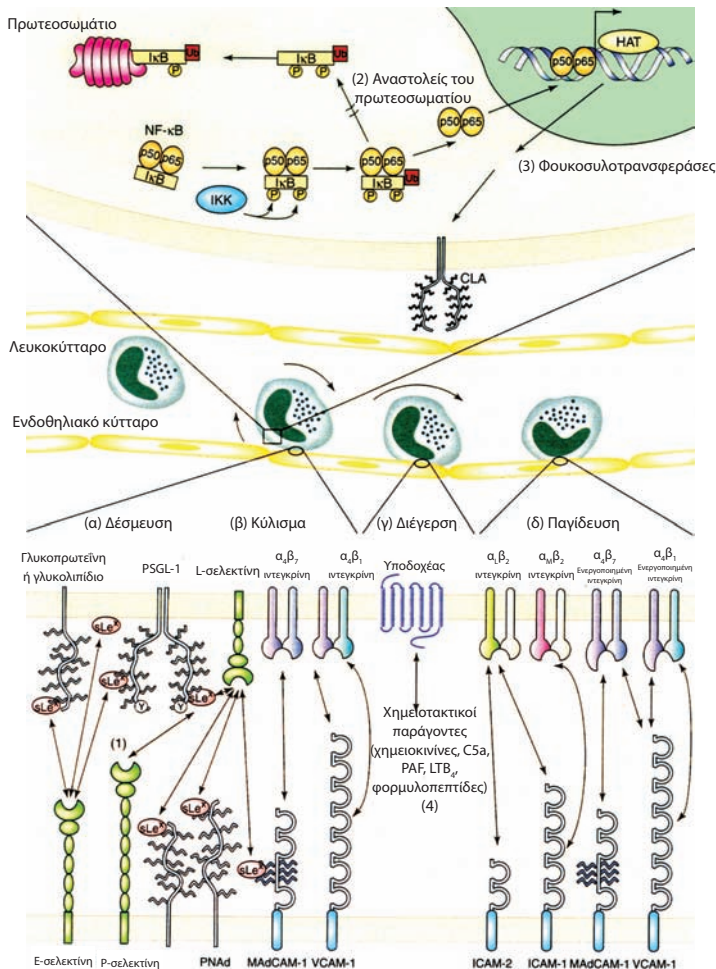
Η μελέτη των επιμέρους χαρακτηριστικών των CAMs αποκαλύπτει συνεχώς στόχους για φαρμακολογικές παρεμβάσεις. Ο τελικός στόχος κάθε φαρμακολογικής παρέμβασης είναι να διακόψει βασικά σημεία της διαδρομής που οδηγεί στον καταρράκτη των πολλαπλών βιοχημικών σημάτων της κατά στάδια στράτευσης των λευκοκυττάρων κατά την εξέλιξη της φλεγμονής.

Στις γραμμές που ακολουθούν θα παρουσιασθούν εν συντομία τα κυριότερα σημεία αυτής της ερευνητικής προσπάθειας που αφορά τη φαρμακολογική παρεμβολή στο επίπεδο των μηχανισμών οι οποίοι διέπουν την πορεία των λευκοκυττάρων προς το σημείο της ιστικής βλάβης. Σε κάθε περίπτωση δεν πρέπει να λησμονείται ότι η φλεγμονή αποτελεί μέχρι ενός σημείου ένα βασικό αμυντικό όπλο του οργανισμού. Ως εκ τούτου, η εκλεκτική παρέμβαση σε ορισμένες φάσεις της δεν σημαίνει τίποτε άλλο παρά έναν επιθυμητό έλεγχο.

### **Οι σελεκτίνες ως στόχος**

Πειραματικά δεδομένα συνηγορούν υπέρ του γεγονότος ότι η αναστολή της ενεργοποίησης των σελεκτινών οδηγεί στην αναστολή του κυλίσιματος των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο. Το γεγονός αυτό επηρεάζει αρνητικά τη συσσώρευση των λευκοκυττάρων. Κατά συνέπεια, η δυνατότητα αναστολής της δραστηριότητας των σελεκτινών θα πρέπει να έχει ευεργετικές επιδράσεις στην αντιμετώπιση της φλεγμονής. Οι προσπάθειες αυτές εστίαστηκαν σε δύο μεθόδους.

Η πρώτη αφορούσε τη δοκιμασία με μονοκλωνικά αντισώματα. Οι προσπάθειες προς την κατεύθυνση αυτή δεν είχαν μέχρι τώρα επιτυχή κατάληξη. Η χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων προς μία συγκεκριμένη σελεκτίνη ή συνδυασμού αντισωμάτων εναντίον όλων των σελεκτινών δεν είχε θερα-



**Εικόνα 5.16: Φαρμακολογικοί στόχοι (αριθμοί 1 έως 6) σε κρίσιμα σημεία της όλης διαδικασίας πολλών βημάτων που χαρακτηρίζει τις αλληλεπιδράσεις ενδοθηλιακών κυττάρων και λευκοκυττάρων κατά την πορεία εξαγωγής των τελευταίων.** Στο κέντρο του σχήματος αναπαρίσταται η αλληλεπιδράση ενδοθηλιακών κυττάρων και λευκοκυττάρων. Στο κάτω μέρος του σχήματος αναπαρίστανται στην επιφάνεια των λευκοκυττάρων (άνω μέρος) οι υποδοχείς των χημειοκινών και τα μόρια προσκόλλησης που δρουν ως υποδοχείς για τα αντίστοιχα μόρια προσκόλλησης της επιφάνειας των ενδοθηλιακών κυττάρων (κάτω μέρος). Επίσης αναφέρονται οι χημειοστακτικοί παράγοντες (στη μέση) που διεγείρουν τους αντίστοιχους επταδιαμεμβρικούς υποδοχείς των χημειοκινών στην επιφάνεια των λευκοκυττάρων. Στο άνω μέρος του σχήματος αναπαρίσταται ο μηχανισμός δράσης στον πυρήνα των λευκοκυττάρων του παράγοντα NF-κB (ετεροδιμερές των p50 και p65), ο οποίος προάγει τη μεταγραφή των γονιδίων που κωδικοποιούν τη L-σελεκτίνη και το αντιγόνο CLA (Cutaneous Lymphocyte Antigen). Προηγείται στο κυτταρόπλασμα η αποδέσμευση του μεταγραφικού παράγοντα NF-κB (p50,p65) από την πρωτεΐνη IκB, η οποία διασπάται στη συνέχεια από το πρωτεοσωμάτιο.

*Trends Pharmacol. Sci. 24:49-52 (2003)*

πυκνικά αποτελέσματα, γεγονός που υποδηλώνει ότι χρειάζεται μια ευρύτερη προσέγγιση του όλου θέματος (13).

Η δεύτερη προσπάθεια βασίζεται στο γεγονός ότι όλες οι seleκτίνες αναγνωρίζουν την υδατανθρακική δομή του φυσιολογικού προσδέτη των seleκτινών, του  $sLe^x$ . Με βάση τη γνώση αυτή, επιχειρήθηκε η σύνθεση αναστολέων των seleκτινών. Επειδή όμως η σύνδεση των seleκτινών με τον μονοσθενές  $sLe^x$  είναι ασθενής, προτιμήθηκε η σύνθεση και η δοκιμασία μορίων δομικά ανάλογων προς τον  $sLe^x$  που θα είχαν μεγαλύτερη συγγένεια προς τις seleκτίνες. Μεταξύ των μιμητικών μορίων του  $sLe^x$  που ερευνώνται με επιτυχία σε κλινικές δοκιμασίες περιλαμβάνεται η βιμοσιαμόση για την αντιμετώπιση του βρογχικού άσθματος και της ψωρίασης (13).

Πρόσφατα, μάλιστα, η προσοχή εστιάστηκε στη σύνθεση αναλόγων με μικρό στα οποία οι υδατάνθρακες έχουν αντικατασταθεί από άλλες ομάδες με στόχο τη διευκόλυνση της σύνθεσης, την απορροφητικότητα μετά την από του στόματος χορήγηση και τη μεγαλύτερη συγγένεια προς το στόχο. Ανάμεσα στις μη υδατανθρακικές ουσίες που δοκιμάζονται προκλινικά με επιτυχία ως αντιφλεγμονώδη, περιλαμβάνονται η οντογένη και οι εφομυκίνες. Οι τελευταίες, που είναι μη υδατανθρακικά μικρά μόρια που μιμούνται την τριδιάστατη δομή του  $sLe^x$ , ελαττώνουν στα πειραματόζωα το κύλισμα των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο και έχουν ευεργετικά αποτελέσματα στην πειραματική ψωρίαση (7,13).

Συνοψίζοντας όσα αναπτύχθηκαν, διαπιστώνεται ότι προτείνονται και δοκιμάζονται διάφοροι τρόποι για την αδρανοποίηση των seleκτινών στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων με στόχο να δράσουν ως αναστολείς αυτών των μορίων προσκόλλησης. Δοκιμάζονται διαλυτά τμήματα των υποδοχέων που συνδέονται με τα μόρια προσκόλλησης, η χρήση αντισωμάτων καθώς και διάφορα πεπτιδία και υδατανθρακικά μη αζωτούχα υπολείμματα που θα αποκλείουν τα μόρια αυτά.

Δοκιμάζονται όμως και άλλες οδοί προσέγγισης. Οι χημειοκίνες που διεγείρουν τα λευκοκύτταρα και κατ' επέκταση τα μόρια προσκόλλησης, καθώς και οι μεταγραφικοί παράγοντες που προάγουν τη σύνθεσή τους, αποτελούν σήμερα στόχους φαρμακολογικής έρευνας.

Οι αποκλειστές των υποδοχέων των χημειοκινών αποτελούν έναν άλλο φαρμακολογικό στόχο. Ένα άλλο είδος προσέγγισης αφορά την αναστολή της δράσης του μεταγραφικού παράγοντα NF-κΒ. Αναστολείς των πρωτεοσωματίων οι οποίοι ευρίσκονται σε φάσεις κλινικών δοκιμασιών οδήγησαν σε καταστολή του παράγοντα NF-κΒ και υποβάθμιση των προσδετών των seleκτινών. Τέλος, ένας άλλος στόχος είναι επίσης οι φουκοξυλτρανφεράσες των λευκοκυττάρων οι οποίες ελέγχουν τις μετά-μεταφραστικές τροποποιήσεις των προσδετών των seleκτινών. Εκείνο που είναι πλέον αντιληπτό είναι ότι ο μονομερής αποκλεισμός μίας seleκτίνης δεν είναι αρκετός και

ότι θα πρέπει να γίνουν συνδυασμένες προσεγγίσεις (7).

### **Οι ιντεγκρίνες και τα CAMs της υπεραικογένειας των ανοσοσφαιρινών ως στόχοι**

Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ ιντεγκρινών και CAMs της υπεραικογένειας των ανοσοσφαιρινών είναι αυτές που προάγουν τη σταθερή προσκόλληση των λευκοκυττάρων στα ενδοθηλιακά κύτταρα κατά την εξέλιξη της φλεγμονής. Κεντρικό ρόλο στις αλληλεπιδράσεις αυτές έχουν οι  $\beta_2$  ιντεγκρίνες (CD11/CD18) και οι  $\alpha_4$  ιντεγκρίνες (CD49d). Φαρμακολογικός στόχος είναι τόσο ο αποκλεισμός της σύνδεσης ιντεγκρίνης- CAM όσο και η παρέμβαση στις βιοχημικές οδούς που εξαρτώνται από τις ιντεγκρίνες. Δοκιμάζονται μονοκλωνικά αντισώματα (mAbs) και μικρά μόρια αναλογικά της διφαινιλουρίνας. Τα δεύτερα φαίνεται να πλεονεκτούν των πρώτων διότι, μεταξύ άλλων, υπάρχουν μικρότερες πιθανότητες για ανεπιθύμητες ανοσιακές αντιδράσεις (13).

#### **1. Αποκλεισμός με μονοκλωνικά αντισώματα και μικρομοριακούς ανταγωνιστές**

Οι  $\beta_2$ -ιντεγκρίνες είναι οι κυριότερες ιντεγκρίνες των ουδετεροφίλων, δηλαδή των πρώτων λευκοκυττάρων που φθάνουν στο σημείο της μόλυνσης ή της κάκωσης. Η κοινή αλυσίδα CD18 των  $\beta_2$ -ιντεγκρινών είναι ο κυριότερος στόχος για τη φαρμακολογική τροποποίηση της ανοσιακής απόκρισης. Παρόμοια φάρμακα που θα εμποδίζουν τη σύνδεση των  $\beta_2$ -ιντεγκρινών με τους αντίστοιχους CAM θα μπορούσαν να αναστείλουν την οξεία φάση της φλεγμονής.

Οι προσπάθειες αποκλεισμού της CD18 με τα mAbs ροβελιζουμάβη και ερλιζουμάβη για την αντιμετώπιση του ισχαιμικού τραυματισμού του μυοκαρδίου και του εγκεφάλου απέβησαν ανεπιτυχείς κατά τη διάρκεια των κλινικών δοκιμασιών. Το ίδιο ανεπιτυχής υπήρξε σε περιπτώσεις εγκεφαλικών επεισοδίων και η δοκιμασία της ενλιμομάβης που δρα ως mAb των ICAM-1, που είναι οι κύριοι υποδοχείς της CD18 στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Οι διαπιστώσεις αυτές οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι ο αποκλεισμός των CAMs είναι περιορισμένης αξίας για την αντιμετώπιση της ισχαιμικής βλάβης. Αντίθετα, η χρήση mAbs όπως η εφλουζιμάβη ή μοριακών ανταγωνιστών όπως το με κωδικό όνομα IC1747 ενάντια στην ιντεγκρίνη CD11a υπήρξε επιτυχής για την αντιμετώπιση της ψωρίασης. Επίσης, η δοκιμασία του mAb οντουλιμομάβη ενάντια στην απόρριψη χειρουργικών μοσχευμάτων υπήρξε επιτυχής. Η ουσία αυτή είναι ένα mAb ενάντια στην πρωτεΐνη CD11a η οποία μαζί με την CD18 σχηματίζει το σύμπλοκο LFA-1 (Leukocyte Function Antigen-1: Αντιγόνο-1 λειτουργίας των λευκοκυττάρων) των  $\beta$ -ιντεγκρινών (13).

Όπως ήδη αναφέρθηκε, φαρμακολογικός στόχος είναι και η  $\alpha_4$  ιντεγκρι-

νική υπομονάδα (CD49d) η οποία θεωρείται κομβικό σημείο στο βιοχημικό μονοπάτι που μεθοδεύει τη σταθερή προσκόλληση των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο. Επίσης θεωρείται ότι η παραπάνω βιοχημική οδός μεθοδεύει την εξαγγείωση των ηωσινοφίλων και των λεμφοκυττάρων. Το mAb ναταλιζουμάβη που αποκλείει την παραπάνω ιντεγκρίνη απεδείχθη επιτυχές ενάντια σε παθήσεις όπου εμπλέκονται τα παραπάνω λευκοκύτταρα, όπως είναι οι φλεγμονώδεις παθήσεις του εντέρου, η πολλαπλή σκλήρυνση και το βρογχικό άσθμα.

Οι ερευνητικές προσπάθειες επίσης στρέφονται σήμερα προς την παραγωγή μικρού Μ.Β. αποκλειστών των  $\beta_2$ -ιντεγκρινών. Παράγωγα των περιοχών RGD και LDV της επιφάνειας των προσδετών αυτών έχουν συντεθεί με στόχο τη θεραπεία φλεγμονωδών καταστάσεων, όπως η θρόμβωση και το βρογχικό άσθμα. Σε φάσεις κλινικών δοκιμασιών ευρίσκονται επίσης μικρά πεπτιδικά μόρια τα οποία δρουν ως αποκλειστές των ιντεγκρινών  $\alpha_4\beta_1$  και  $\alpha_4\beta_7$  τα οποία αποδείχθηκαν θετικά επί βρογχικού άσθματος σε πειραματόζωα (13,14,38).

Υπάρχουν, όμως, πολλές δυσκολίες λόγω της ποικιλότητας των ιντεγκρινών και διότι δεν είναι ακριβώς γνωστοί οι μηχανισμοί σύνδεσης προσδετών με ιντεγκρίνες ούτε η βιοχημική οδός που κινητοποιείται κάθε φορά, ενώ κάθε συντιθέμενη ουσία διαφέρει ως προς τη διάταξη του ενεργού τμήματος του μορίου της στο θύλακα επαφής της αντίστοιχης ιντεγκρίνης. Η γνώση της ακριβούς τριτοταγούς δομής των ιντεγκρινών και ο εντοπισμός εκείνων ακριβώς των μορίων των ιντεγκρινών που είναι υπεύθυνα για την ενεργοποίηση του βιοχημικού σήματος είναι επίσης δυσκολίες που πρέπει να ξεπεραστούν.

Έχει επίσης ευρεθεί ότι οι αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες των στατινών οφείλονται στο γεγονός ότι εμποδίζουν τη σύνδεση των ICAM-1 με το αντιγόνο LFA-1 για το οποίο ήδη έχει γίνει λόγος. Με το μηχανισμό αυτό σταματά η στράτευση των λευκοκυττάρων προς το σημείο της φλεγμονής. Φάρμακα όπως το πειραματικό LFA703 με αυξημένη συγγένεια προς το LFA-1 και μικρή προς την αναγωγή HMG-CoA, που αποτελεί τον κλασικό αντιχοληστερικό στόχο των στατινών, δοκιμάζονται με επιτυχία σε πειραματόζωα. Οι θέσεις σύνδεσης των στατινών στο LFA-1 αποτελούν σήμερα φαρμακολογικό στόχο ο οποίος πιθανόν να βοηθήσει στην αντιμετώπιση χρόνιων φλεγμονών όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η ψωρίαση και η χρόνια βρογχίτιδα (39).

Επίσης, σε φάση III κλινικών δοκιμασιών που σχετίζονται με τη νόσο του Crohn έχει εισέλθει και η φαρμακευτική ουσία αλικαφορσένη. Η ουσία αυτή είναι μια ολιγοδεοξυνουκλεοτιδική ακολουθία (20μερές) η οποία αναγνωρίζει και σχηματίζει ένα ετεροδιμερές με το mRNA του ICAM-1, προάγοντας

έτσι την καταστροφή του από τη ριβονουκλεάση-H. Δρα δε ως αναστολέας της κινητοποίησης των ανοσιακών κυττάρων που σχετίζονται με τη νόσο αυτή. Δοκιμάζεται επίσης με τη μορφή ενέματος και σε περιπτώσεις ελκωτικής κολίτιδας (40).

## 2. Παρεμβάσεις στο επίπεδο των μεταγραφικών βιοχημικών οδών

Στα ενδοθηλιακά κύτταρα το αραχιδονικό οξύ μεταβολίζεται από την κυκλοοξυγενάση (COX) προς προσταγλανδίνες, από τη λιποοξυγενάση προς λευκοτριένες και από την εποξυγενάση του κυττοχρώματος P450 προς τα εποξυεικοσατριενοϊκά οξέα (EETs). Το CYP2J2, ισοένζυμο του P450, θεωρείται ότι καταλύει τη μετατροπή του αραχιδονικού οξέος προς EETs. Τα EETs που διακρίνονται σε τέσσερα τοποϊσομερικά προϊόντα, το 14,15 EET, το 11,12 EET, το 8,9 EET και το 5,6 EET, δρουν είτε αυτοκρινώς είτε παρακρινώς. Τα EETs προκαλούν χάλαση των λείων μυϊκών ινών των αγγείων και αγγειοδιαστολή προάγοντας την έξοδο  $K^+$  από τους ασβεστιοεξαρτώμενους διαύλους  $K^+$  των κυττάρων αυτών, η οποία οδηγεί σε υπερπόλωση της κυτταρικής τους μεμβράνης. Πιθανόν πρόκειται για τον επονομαζόμενο υπερπολωτικό παράγοντα του ενδοθηλίου. Παράλληλα τα EETs έχουν αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, διότι αναστέλλουν τη δράση της κινάσης της IκB. Η IκB δρα ανασταλτικά στον φλεγμονώδη μεταγραφικό παράγοντα NF-κB ο οποίος προάγει τη μεταγραφή και σύνθεση των μορίων προσκόλλησης ICAM-1, VCAM-1, E-σελεκτίνης, καθώς επίσης και των ενζύμων COX-2 και iNOS τα οποία σχετίζονται με τη φλεγμονή και για τα οποία θα γίνει λόγος στη συνέχεια (41,42).

Οι ιδιότητες αυτές των EETs δημιουργούν νέους δρόμους προσέγγισης για τη θεραπεία της φλεγμονής. Οι προσπάθειες στρέφονται περισσότερο προς τη σύνθεση ουσιών που θα επάγουν τις ενδοθηλιακές εποξυγενάσες και στη σύνθεση σταθερών από του στόματος χορηγούμενων αγωνιστών EETs. Η αναστολή της αδρανοποίησης των EETs δεν θα οφελούσε, διότι τα προϊόντα μεταβολισμού τους ασκούν τις ίδιες ενέργειες. Ουσίες που να επάγουν εκλεκτικά το CYP2J2 δεν έχουν ακόμη ευρεθεί. Το ζητούμενο είναι τα φάρμακα που θα συντεθούν να μπορούν να προάγουν τις αντιφλεγμονώδεις ενέργειες των EETs, χωρίς να προάγουν συγχρόνως την αγγειοδιαστολή. Το γεγονός ότι οι δύο αυτές ενέργειες μεθοδεύονται από δύο διαφορετικούς μηχανισμούς καθιστά την προσπάθεια αυτή εφικτή (41).

Επίσης, σε καλλιέργειες ανθρώπινων ενδοθηλιακών κυττάρων διαπιστώθηκε ότι η ινσουλίνη ελαττώνει την έκφραση του ICAM-1 μέσα από την αυξημένη γονιδιακή έκφραση της NOS και τη σύνθεση NO. Τα ευρήματα αυτά συνηγορούν υπέρ ενός αντιφλεγμονώδους και αντιαθηρωματικού ρόλου της ινσουλίνης και ανοίγουν νέους δρόμους στη φαρμακολογική έρευνα (43).

### **Ο ανταγωνισμός των CAMs στην κλινική πράξη**

Όπως ήδη αναφέρθηκε, ο ανταγωνισμός των CAMs μπορεί να επιτευχθεί θεωρητικά είτε με αποκλειστές στους οποίους περιλαμβάνονται τα mAbs και με μικρομοριακές ενώσεις είτε με αναστολείς των χημειοκινών ή με παρεμβάσεις στη γονιδιακή μεταγραφή και έκφραση των CAMs στην κυτταρική μεμβράνη.

Τα ευρήματα σε επίπεδο πειραματοζώων δεν αποδείχθηκαν πάντα αποτελεσματικά στις κλινικές δοκιμασίες, με εξαίρεση τις περιπτώσεις της ψωρίασης και του βρογχικού άσθματος. Αυτό πιθανόν να οφείλεται είτε στο γεγονός ότι εναλλακτικοί βιοχημικοί μηχανισμοί μεθοδεύουν την προσκόλληση και τη μετανάστευση των λευκοκυττάρων στις περιπτώσεις αυτές είτε στο γεγονός ότι τα λευκοκύτταρα αυτά δεν έχουν αποφασιστικό ρόλο στις συγκεκριμένες φλεγμονώδεις παθήσεις. Επίσης ο αποκλεισμός των LFA-1 έχει σχέση και με άλλες δραστηριότητες των λευκοκυττάρων, και όχι μόνο με την εξαγγείωση. Δεν πρέπει να διαφεύγει της προσοχής ότι τα μη θετικά αποτελέσματα παρατηρήθηκαν επί αποκλεισμού των CD18 που έχουν σχέση με την κινητοποίηση των πολυμορφοπυρήνων, ενώ τα θετικά είχαν σχέση με τον αποκλεισμό των α4-ιντεγκρινών που έχουν σχέση με τα λεμφοκύτταρα.

Η δυσatóτητα αναστολής περισσότερων του ενός CAMs ίσως αποβεί πιο αποτελεσματική. Δεν πρέπει, όμως, να λησμονείται ότι ο αποκλεισμός ιδιαίτερα των CD18 μπορεί να οδηγήσει σε ανεπάρκεια της φυσικής ανοσιακής απόκρισης. Δεν πρέπει, επίσης, να λησμονείται ότι η σύνδεση των CAMs με τους υποδοχείς κινητοποιεί και άλλους μηχανισμούς που έχουν σχέση με τη δραστηριότητα πολλών κυττάρων του ανοσιακού συστήματος όπως η κινητικότητα, η εξωκύτωση, η σύνθεση κυτταροκινών και η αναπνευστική έκκριση. Χρειάζεται πολλή έρευνα και μεγάλη προσπάθεια ακόμη (13).

### **Απόσπαση των λευκοκυττάρων από το ενδοθήλιο**

Οι υποδοχείς FPRs αποτελούν στόχο φαρμακολογικών παρεμβάσεων. Η χορήγηση ουσιών που θα μιμούνται την ανεξίνη 1 πιστεύεται ότι θα προαγάγει την απόσπαση των λευκοκυττάρων από την ενδοθηλιακή επιφάνεια και την εκ νέου απόδοσή τους στην αιματική κυκλοφορία. Αυτό θα αποτρέψει την πορεία τους προς την ιστική βλάβη. Πιστεύεται ότι θα υπάρχει διαφοροποίηση των υποδοχέων αυτών στα διάφορα κύτταρα. Και αυτό είναι κάτι που πρέπει να μελετηθεί. Το γεγονός ότι τα παράγωγα αυτά θα μιμούνται εκλεκτικά τη δράση ενδογενών αντιφλεγμονωδών ουσιών, δηλαδή των γλυκοκορτικοειδών, πιστεύεται ότι θα δώσει στη θεραπευτική ασφαλέστερες αγωγές. Τα θέματα αυτά ευρίσκονται υπό έρευνα (20).

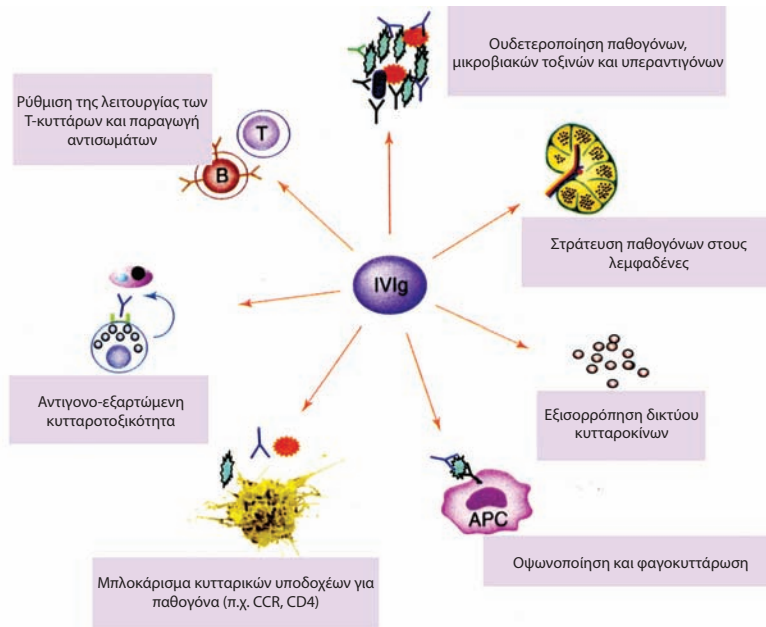


### **Παρεμβάσεις στους φαγοκυτταρικούς μηχανισμούς**

Η φαγοκυττάρωση παίζει έναν ρόλο κλειδί στη βιολογία των κυττάρων παρέχοντας έναν μηχανισμό άμυνας ενάντια σε ξένους τραυματικούς παράγοντες. Ο ρόλος των Fc-υποδοχέων στα λευκοκύτταρα έχει ήδη αναπτυχθεί επαρκώς. Οι υποδοχείς αυτοί αποτελούν σήμερα στόχο έρευνας για κλινικές εφαρμογές ειδικά ενάντια στις ιικές λοιμώξεις.

Οι ιοί αποτελούν ιδιαίτερη περίπτωση. Οι φαρμακολογικοί στόχοι ποικίλλουν και ορισμένοι από αυτούς αφορούν και τη φαγοκυττάρωση. Η πρόσδεση των ιών στο κύτταρο ξενιστή έχει αμφίδρομο χαρακτήρα. Εάν ο ιός δεν μπορέσει να εισχωρήσει, τότε μπορεί να ξεφύγει από την κυτταρική μεμβράνη του υποψήφιου ξενιστή και να στραφεί αλλού. Η απομάκρυνση, όμως, αυτή οδηγεί σε μεταβολές στον ιό οι οποίες ελαττώνουν ή και απομακρύνουν τη δυνατότητα του τελευταίου να προσβάλλει άλλα κύτταρα. Ειδικά αντισώματα θα μπορούν να προστατεύουν από τους ιούς. Από τα αντισώματα που δοκιμάζονται, τα πλέον αποτελεσματικά δείχνουν να είναι τα λεγόμενα εξουδετερωτικά (neutralizing) αντισώματα. Τα αντισώματα αυτά συνδέονται με τον ιό στο επίπεδο του καλύμματος ή των καψικών πρωτεϊνών και εμποδίζουν την πρόσδεση και είσοδο του ιού στο κύτταρο ξενιστή. Άλλα ειδικά αντισώματα μπορεί να δρουν ως οψωνίνες και να επιτείνουν την πρόσληψη των ιών από τα φαγοκύτταρα. Στην περίπτωση αυτή, το αποτέλεσμα μπορεί να επιταχίσει με την ενεργοποίηση του συμπληρώματος μέσω της χρήσης αντισωμάτων καλυμμένων με ιικά σωματίδια. Στην περίπτωση που οι ιικές πρωτεΐνες εκφράζονται στην επιφάνεια του κυττάρου ξενιστή, μπορεί τότε να αποτελέσουν στόχο για ειδικά εναντίων των ιών αντισώματα, γεγονός που θα οδηγήσει σε λύση του μολυσμένου κυττάρου που θα μεθοδεύεται από το συμπλήρωμα. Το αυτό μπορεί να γίνει και από πλευράς των κυττάρων φυσικών φονέων τα οποία θα λύσουν το μολυνθέν κύτταρο μέσα από έναν μηχανισμό που ονομάζεται κυτταρική τοξικότητα κατευθυνόμενη από αντίσωμα (antibody-directed cellular cytotoxicity). Τέλος, προσπάθειες γίνονται και με την κατηγορία των επιτευνόντων (enhanced) αντισωμάτων τα οποία προάγουν την είσοδο των ιών που καλύπτονται από τα αντισώματα αυτά στο λευκοκύτταρο μέσω των υποδοχέων Fc (27).

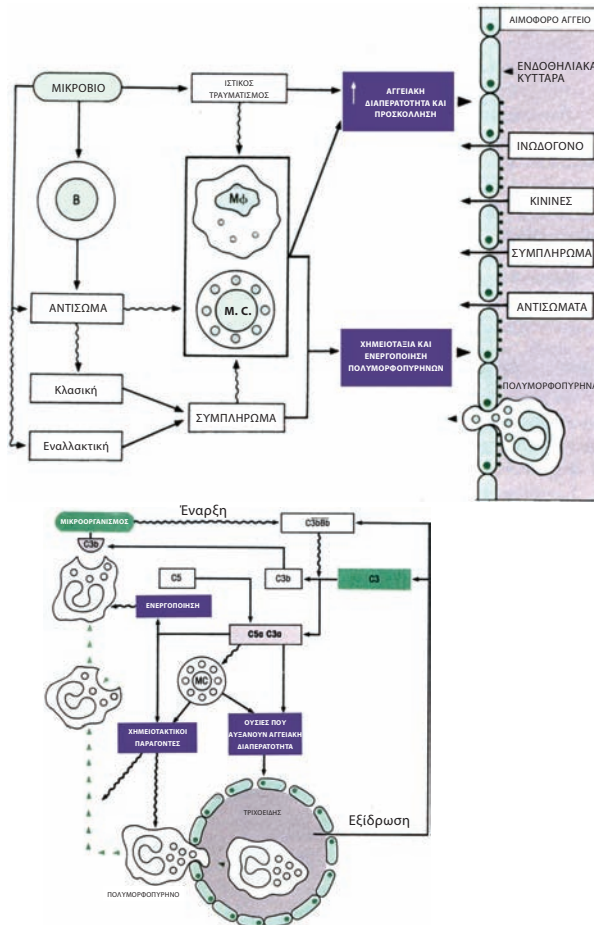
Υπάρχουν όμως και περιπτώσεις όπου είναι επιθυμητή η ανασταλτική παρέμβαση στη φαγοκυττάρωση. Διάφορα φάρμακα δρουν ανασταλτικά στη φαγοκυττάρωση. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνεται και η κολχικίνη η οποία αναστέλλει τη φαγοκυττάρωση των κρυστάλλων του ουρικού οξέος από τα ουδετερόφιλα λευκοκύτταρα και μετριάξει τα φλεγμονώδη φαινόμενα. Ο μηχανισμός ενέργειας αφορά στην ανασταλτική δράση του φαρμάκου στα μικροσωληνάρια των λευκοκυττάρων. Επίσης, φάρμακα όπως οι στατίνες έχει ευρεθεί ότι ασκούν αντιφλεγμονώδη δράση. Πιστεύεται ότι



**Εικόνα 5.17: Προτεινόμενοι μηχανισμοί δράσης της IVIg ανοσοσφαιρίνης.** Η IVIg είναι μία IgG ανοσοσφαιρίνη με πλειοτροπική δράση στο ανοσιακό σύστημα και ευεργετικά αποτελέσματα σε διάφορες φλεγμονώδεις καταστάσεις από παθογόνα αίτια. Στη σχηματική αυτή παράσταση παρουσιάζονται οι προτεινόμενοι μηχανισμοί δράσης της. APC: Αντιγόνοπαρουσιαστικό κύτταρο. *Trends Pharmacological Sci.* 25:306-310 (2004)

δρουν ανασταλτικά στη δράση της CRP. Η τελευταία προάγει τους φαγοκυτταρικούς μηχανισμούς όπως έχει ήδη περιγραφεί (44).

Η κάθαρση με φαγοκυτταρικούς μηχανισμούς των αποπτωτικών ουδετερόφιλων λευκοκυττάρων από τα μακροφάγα παίζει βασικό ρόλο στην εξέλιξη της φλεγμονής· δηλαδή αν αυτή θα λυθεί ή αν θα μεταπέσει σε χρόνια κατάσταση με όλα τα επακόλουθα. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι τ' αποπτωτικά κύτταρα διατηρούν την κυτταρική τους μεμβράνη και η φαγοκυττάρωσή τους δεν συνεπάγεται την απελευθέρωση φλεγμονογόνων κυτταροκινών οι οποίες ανακυκλώνουν τη φλεγμονή. Το αντίθετο συμβαίνει με την φαγοκυττάρωση των νεκρωθέντων κυττάρων και των οψωνοποιημένων μικροβίων. Ως εκ τούτου εκτός από τη φαρμακολογική στρατηγική η οποία θ' αποσκοπεί στο να προαγάγει την απόπτωση των ουδετερόφιλων, γεγονός που έχει πολλές δυσκολίες προς το παρόν, μια παράλληλη στρατηγική είναι η αύξηση της φαγοκυτταρικής ικανότητας των μακροφάγων για τ' αποπτωτικά κύτταρα. Κοινή είναι η διαπίστωση ότι τα γλυκοκορτικοειδή παρουσιάζουν θετικά αποτελέσματα προς την κατεύθυνση αυτή. (45)



**Εικόνα 5.18: Σχηματική παράσταση που αφορά το ρόλο του συμπληρώματος στην εξέλιξη της φλεγμονής. Άνω:** Η ανοσιακή απόκριση προάγεται είτε μέσω της εναλλακτικής οδού του συμπληρώματος ή μέσω της κλασικής οδού διέγερσης του συμπληρώματος από το αντίσωμα: Τα σιτευτικά κύτταρα (MC: Mast Cell) που συρρέουν στον τόπο της ιστικής βλάβης απελευθερώνουν, μεταξύ άλλων, ουσίες που προάγουν τη χημειοταξία, την έκφραση μορίων προσκόλλησης στο αγγειακό τοίχωμα και την αύξηση της διαπερατότητας του. Στοιχεία του συμπληρώματος που διεγείρεται από το αντίσωμα προάγουν τους μηχανισμούς αυτούς είτε άμεσα είτε διεγείροντας τα σιτευτικά κύτταρα, ενώ παράλληλα προάγουν τη φαγοκυττάρωση από τα πολυμορφοπύρηνα. **Κάτω:** Λεπτομερέστερη αναφορά στην εναλλακτική οδό του συμπληρώματος: Τα σιτευτικά κύτταρα (MC: Mast Cell) που συρρέουν στον τόπο της ιστικής βλάβης απελευθερώνουν, μεταξύ άλλων, αγγειοδραστικές ουσίες και φλεγμονογόνες και χημειοτακτικές κυτταροκίνες. Υπό την επίδραση του χημειοτακτικού ρεύματος τα πολυμορφοπύρηνα ουδετερόφιλα λευκοκύτταρα περνούν το αγγειακό τοίχωμα και μέσω των C3b-υποδοχέων τους οποίους φέρουν συνδέονται με τα επενδυμένα με το C3b τμήμα του συμπληρώματος μικρόβια και τα προσλαμβάνουν στο εσωτερικό τους. Παράλληλα, οι παράγοντες C3a και C5a, που αποσπώνται από το συμπλήρωμα λόγω διέγερσης από το μικρόβιο μιας κοβερτάσης που το διασπά, διεγείρουν τα σιτευτικά κύτταρα στο να απελευθερώνουν περαιτέρω μεσολαβητές της φλεγμονής.

Roit I: Essential Immunology (1991)

Τέλος, ο ρόλος των αντιμικροβιακών χημειοθεραπευτικών ουσιών στην αντιμετώπιση του παθογόνου μικροοργανισμού, όταν αυτός είναι η αιτία της ιστικής βλάβης, είναι γνωστός και δεν χρειάζεται περαιτέρω ανάπτυξη. Σημειώνεται απλά ότι η δράση αυτή των χημειοθεραπευτικών ουσιών είναι αφενός ουσιαστική του αμυντικού συστήματος, αφετέρου επικουρική και βοηθά την προσπάθεια εξουδετέρωσης του βλαπτικού παράγοντα από τα λευκοκύτταρα.

Εντούτοις τα προβλήματα που προέρχονται από την ανάπτυξη αντοχής στα χημειοθεραπευτικά φάρμακα αλλά και η εμφάνιση νέων παθογόνων παραγόντων στρέφουν την έρευνα και προς άλλες κατευθύνσεις. Η χρησιμοποίηση των εμβολίων έχει μόνο εξειδικευμένη αξία, ενώ η παθητική χορήγηση αντισωμάτων έχει παροδική μόνο αξία. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι ανακοινώσεις για την επιτυχή ενδοφλέβια χορήγηση της ανοσοσφαιρίνης IVIg (Intravenous Immunoglobulin) σε ασθενείς με ανοσοανεπάρκεια και σε ένα ευρύ φάσμα περιπτώσεων με αυτοάνοσες και φλεγμονώδεις διαταραχές. Ενθαρρυντικά είναι επίσης τα αποτελέσματα από τη χορήγησή της σε διάφορες λοιμώξεις και σηπτικές καταστάσεις. Τα σκεύασματά αυτά διακρίνονται για τις πλειοτρόπες ενέργειές τους, όπως η εξουδετέρωση παθογόνων μικροοργανισμών, μικροβιακών τοξινών και υπεραντιγόνων. Επίσης, ευνοϊκές είναι οι δράσεις τους που αφορούν τη ρύθμιση της λειτουργίας των Τ-λεμφοκυττάρων και την παραγωγή αντισωμάτων, τη στράτευση των παθογόνων μικροοργανισμών εντός των λεμφαδένων, την ισορροπία του δικτύου των κυτταροκινών, τον αποκλεισμό των κυτταρικών υποδοχέων για τα παθογόνα, την οψωνοποίηση και τη φαγοκυττάρωση των μικροοργανισμών. Πλεονέκτημα των σκευασμάτων αυτών είναι ότι προέρχονται από πλάσματα από χιλιάδες υγιείς ανά τον κόσμο δότες, με αποτέλεσμα να υπάρχει ένα ευρύτατο φάσμα επιμέρους εξειδικευμένων μορίων της IgG. Μειονέκτημα αποτελεί η μη εισέτι ανεύρεση των σωστών δοσολογικών σχημάτων. Έχει παρατηρηθεί ότι υψηλή δοσολογία αναστέλλει διάφορους βραχίονες του ανοσιακού συστήματος, όπως η αναστολή της ωρίμανσης και λειτουργίας των δενδριτικών κυττάρων και η εξασθένηση του πολλαπλασιασμού των Τ-λεμφοκυττάρων και της παραγωγής φλεγμονογόνων κυτταροκινών (46).

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον αναπτύσσεται τα τελευταία χρόνια για την κατανόηση του καταρράκτη του συμπληρώματος και για τη φαρμακολογική αντιμετώπισή του. Πέρα από την οψωνοποιητική δράση κλασμάτων του συμπληρώματος, οι πρωτεΐνες αυτές είναι υπεύθυνες για φλεγμονώδεις ανοσιακές και μη αντιδράσεις. Οι ανασταλτικές προσπάθειες στρέφονται αφενός προς τους μηχανισμούς σύνθεσής του, αφετέρου προς τους αντίστοιχους μηχανισμούς ενεργοποίησής του. Το τελευταίο γίνεται με ανθρώπινα αντισώματα και με συνθετικά μόρια. Η προσπάθεια εντοπισμένης παρέμβασης

στον καταρράκτη του συμπληρώματος ή εκλεκτικής παρέμβασης σε ορισμένο όργανο πιστεύεται ότι θα δώσει ικανοποιητικά θεραπευτικά εργαλεία. Με τον τρόπο αυτό θα περιοριστούν οι βλάβες που παρουσιάζονται από τη μεταμόσχευση οργάνων, τον τραυματισμό μετά την επαναιμάτωση μετά ισχαιμία, τα νεοπλάσματα, τη σπειραματονεφρίτιδα και τη χρήση εξωσωματικής κυκλοφορίας (47-49).

### **Το πρόβλημα των ελεύθερων ριζών του οξυγόνου**

Όπως ήδη αναφέρθηκε, όταν η φλεγμονή δεν είναι δυνατόν να αναχαιτισθεί, τότε τα μονίμως διεγερμένα λευκοκύτταρα παράγουν και αποδίδουν διαρκώς στους πέριξ ιστούς διάφορες EPO οι οποίες ασκούν κυτταροτοξική δράση.

Η φαρμακευτική προσπάθεια αντιμετώπισης του προβλήματος των EPO θα μπορούσε να λεχθεί ότι ευρίσκεται μάλλον στο στάδιο της αναζήτησης. Η ανακάλυψη και χρήση φαρμάκων που θα ασκούν αντιφλεγμονώδη δράση εξουδετερώνοντας τις EPO θα μπορούσε να δώσει λύσεις σε χρόνιες φλεγμονώδεις παθήσεις, όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα και οι φλεγμονώδεις παθήσεις των εντέρων.

Τα μέχρι σήμερα δεδομένα βασίζονται είτε σε ευρήματα από πειραματόζωα είτε σε παρατηρήσεις από φάρμακα που χρησιμοποιούνται στην κλινική για άλλους στόχους. Το ζητούμενο είναι όχι μόνο κατά πόσο μία ουσία έχει αντιοξειδωτικές ιδιότητες, αλλά αν οι ενέργειες αυτές συνοδεύονται από άλλες ανεπιθύμητες, πώς η ουσία θα χορηγηθεί, σε ποια ποσότητα και για πόσο χρονικό διάστημα.

Θεωρητικά, οι ουσίες που χρησιμοποιούνται ή που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν διακρίνονται σε εκείνες που αναστέλλουν το σχηματισμό των EPO, σε εκείνες που έχουν δράση εκκαθαριστών των EPO και, τέλος, σε εκείνες που αναστέλλουν την οξειδωτική επίδραση των EPO. Επίσης, σε μια τέταρτη κατηγορία ανήκουν τα φάρμακα που δρουν στα λευκοκύτταρα ως λευκοπενικοί παράγοντες, ως αναστολείς της χημειοταξίας ως αναστολείς της προσκόλλησης των λευκοκυττάρων ή, τέλος, ως αναστολείς της παραγωγής των EPO από τα λευκοκύτταρα. Στην πραγματικότητα η φαρμακευτική αγωγή βρίσκεται ακόμη σε πειραματικό στάδιο, χωρίς αυτό να σημαίνει ότι ορισμένα φάρμακα, όπως η τριμεταζιδίνη, δεν έχουν ευνοϊκά αποτελέσματα σε καρδιολογικές παθήσεις (45,50-54).

Σχετικά πρόσφατες αναφορές μιλούν για τη σύνθεση ουσιών που μιμούνται την ενδογενή υπεροξειδική δισμουτάση (SOD: Superoxide Dismutase) που δρα ως εκκαθαριστής των EPO. Πρόκειται για ουσίες μικρού M.B. που διέρχονται την κυτταρική μεμβράνη και παρουσίασαν αντιφλεγμονώδη in vivo και in vitro δράση σε διάφορα πειραματικά μοντέλα φλεγμονής (53,54).

Επίσης ο ψευδάργυρος προστατεύει με διάφορους μηχανισμούς από το οξειδωτικό στρες που προκαλείται από τις φλεγμονογόνες κυτταροκίνες, το οποίο οδηγεί στη διέγερση των μεταγραφικών παραγόντων NF-κΒ και AP-1 με όλες τις γνωστές συνέπειες (55).

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ**

1. Retzinger G., DeAnglis A., Einhans C.: Fibrin(ogen) and inflammation. In: Wellcome to the laboratory of G. Retzinger MD, PhD. *Internet-medline* (2000)
2. Guyton A., Hall J.: Textbook of medical physiology. Saunders W. Company. Philadelphia USA, (1996)
3. Despotopoulos A., Sibernagl S.: Color Atlas of Physiology, Georg Thieme Verlag, N.York (1986)
4. Shimizu Y., Hunt St.: Regulating integrin-mediated adhesion. One more function for P13-kinase. *Immunol. Today* 12:565-573 (1996)
5. Κόκκας Β.: Φάρμακα σε χρόνιες φλεγμονές. Νέες τάσεις. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.* 15: 91-100 (1997)
6. Silbernagl S., Lang F.: Color Atlas of Pathophysiology. George Thieme Verlag, N.York (2000)
7. Boehncke W., Schon M.: Interfering with leukocyte rolling. A promising therapeutic approach in inflammatory skin disorders. *Trends Pharmacol. Sci.* 24:49-52 (2003)
8. Pinckard R.: Pathophysiology of the inflammatory Process, Inflammation Lectures-1998, *Internet-Medline* (2003)
9. Morrow J., Roberts L.J.: Lipid derived autocoids. In Hardman J. et al: (eds). "Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics". McGraw-Hill Med. Publ. Div., N.York pp 669-685 (1999)
10. Roit I.: Essential Immunology. Blackwell Scientific Publications. London (1991)
11. Parente L., Perretti M.: Lipocortin 1. More than an anti-phospholipase protein. *Inflam. Res.* 53:125-132 (2004)
12. Rescher U., Danielczyk A., Markoff A.: Functional activation of the formyl Peptide Receptor by a new endogenous ligand in human lung A549 cells. *J. Immunology* 169:1500-1504 (2002)
13. Holger U., Einar E., Lennart L.: Leucocyte and endothelial cell adhesion molecules as targets for therapeutic interventions in inflammatory disease. *Trends Pharmacol. Sci.* 24: 640-646 (2003)
14. Humphries M.; Integrin cell adhesion receptors and the concept of agonism. *Trends Pharmacol. Sci.* 21:29-32 (2000)
15. Research Diagnostic Inc.: Anti-human CD102 (ICAM-2) antibodies, 2001. *Internet, Medline* (2003)
16. Kaplanski G., Marin V., Fabrigoule M., Boulay V.: Thrombin-activated endothelial cells support monocyte adhesion in vitro following expression of intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1; CD54) and vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1;CD106). *Blood* 92:1259-1267 (1998)

17. Shimaoka M., Xiao T., Liu J.: Structures of alpha L1 domain and its complex with ICAM-1 reveal a shape-shifting pathway for integrin regulation. *Cell* 112:99-111 (2003)
18. O'Brien J., Feldman M., Manevich Y.: PECAM-1 (CD31) regulates a hydrogen peroxide-activated nonselective cation channel in endothelial cells. *J. Cell Biol.* 157:173-184 (2002)
19. Newman P.: The biology of PECAM-1. *J. Clin. Invest.* 99:3-8, (1997)
20. Perreti M.: The annexin 1 receptor (s): is the plot unravelling? *Trends Pharmacol. Sci.* 24: 574-580 (2003)
21. Haynes B., Fauci A.: Introduction to the immune system. In Braunwald E. et al (eds) "Harrison's. Principles of internal medicine". McGraw-Hill Med. Publ. Div., N.York, p1805 (2001)
22. Morrow J., Roberts J.K.: Lipid-derived autocooids. In: Hardman J. and Limbird L (eds) "Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics". McGraw-Hill Med. Publ. Co., New York, pp 669-685 (2001)
23. Brown N., Roberts L.J.: Histamine, bradykinin, and their antagonists. In Hardman J. et al: (eds). "Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics". P. 1649, McGraw-Hill Med. Publ. Div., N.York, pp 645-667 (1999)
24. Retzinger G., DeAnglis A., Einhans C.: Fibrin(ogen) and inflammation. In: Wellcome to the laboratory of G. Retzinger MD, PhD. *Internet-medicine* (2000)
25. Win2PDF.: SARS. An hypothesis for treatment. Fc-receptors. <http://www.daneprairie.com>, *Internet-Medline* (2004)
26. Botelho R., Tapper H., Furuya W.: Fcγ-receptor mediated phagocytosis stimulates localized pinocytosis in human neutrophils. *J. Immunology* 169:4423-4429 (2002)
27. Araki N., Hatae I., Furukawa A., Swanson J.: Phosphoinoside-3-kinase independent contractile activities associated with Fcγ-receptor mediated phagocytosis and macropinocytosis in macrophages. *J. Cell Sci.* 116:247-257 (2003)
28. Fukata Y., Amano M., Kaibuchi K.: Rho-Rho -kinase pathway in smooth muscle contraction and cytoskeletal reorganization of non-muscle cells. *Trends Pharmacol. Sci.* 22:32-38 (2001)
29. Δίζα-Ματαυτσή Ε.: Ενδοκυττάριοι μικροοργανισμοί και ανοσιακή απάντηση. *Ελληνική Ιατρική* 70: 5-16 (2004)
30. Van Amersfoort E., Van Berkel T., Kuiper J.: Receptors, mediators and mechanisms involved in bacterial sepsis and septic shock. *Clin. Microbiol. Rev.* 16:379-414 (2003)



31. Miller Y., Chang M., Binder C.: Oxidized low density lipoprotein and innate immune receptor. *Cur. Opin. Lipidol.* 14: 437-443 (2003)
32. ΜC. Οικονόμου Ε.: Η βιοχημεία των ελευθέρων ριζών οξυγόνου . Εις Τούτουζας Π. (Συντ. ) . Ελεύθερες ρίζες οξυγόνου . Ιατρική Εταιρία Αθηνών, Αθήνα (1993)
33. Halliwell B., Gutteridge J.: Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press (1999)
34. Bayraktutan U., Blayney L., Shah A.: Molecular characterization and localization of the NAD(P)H Oxidase components gp91-phox and 22-phox in endothelial cells. *Arteriosclerosis, Thromb. Vasc. Biol.* 20:1903-17 (2000)
35. Wassmann S., Laufs U., Muller K.: Cellular antioxidant effects of atorvastatin in vitro and in vivo. *Arteriosclerosis, Thromb. Vasc. Biol.* 22: 300-311 (2002)
36. Kindzelskii A., Huang J., Chaiworapongsa T.: Pregnancy alters glucose-6-phosphate dehydrogenase trafficking, cell metabolism, and oxidant release of maternal neutrophils. *J. Clin. Invest.* 110:1801-1811 (2002)
37. Busse R., Fleming I.: Regulation of endothelium-derived vasoactive autotoxoid production by hemodynamic forces. *Trends Pharmacol. Sci* 24: 24-29 (2003)
38. Παναγιωτίδης Μ., Τάσιου Α., Βισβαρδής Ε. και Πιπεράκης Σ.: Ελεύθερες ρίζες - Κυτταρική γήρανση . Επαγόμενες βλάβες στο DNA και μηχανισμοί προστασίας . *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν*,12: 135-143 (1994)
39. Featherstone C.: Anti-integrin drugs developed to treat inflammation. *Lancet* 347: 1106 (1996)
40. Weitz-Schmidt G., Wizenbach k., Brinkann V.: Statine selectively inhibit leukocyte function antigen-1 binding to a novel regulatory integrin site. *Nature Med.* 7:687-692 (2001)
41. Isis Pharmaceuticals.: Isis Pharmaceuticals initiates European phase III clinical trial of alicaforsen, Isis 2302, in Crohn's disease. 2002. *Internet, Medline* (2003)
42. Campbell W.: New role for epoxyeicosatrienoic acids as anti-inflammatory mediators. *Trends Pharmacol. Sci.* 21:125-126 (2000)
43. Zedlin D., Liao J.: Reply: cytochrome P450-derived eicosanoids and the vascular wall. *Trends Pharmacol.Sci.* 21:127-128 (2000)
44. Aljada A., Saadeh R., Assian E.: insulin inhibits the expression of intercellular adhesion molecule-1 by human aortic endothelial cells through stimulation of nitric oxide. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 85:2572-2575, (2000)
45. Payan D., Katzung B.: Nonsteroidal antiinflammatory drugs. In: Katzung

- B. (ed) "Basic and Clinical Pharmacology". Prentice-Hall Int.Inc. London, pp 537-559 (1995)
46. Bayry J., Lacroix-Desmazes S., Kazatchkine M., Kaveri S.: Intravenous immunoglobulin for infectious diseases: back to the pre-antibiotic and passive prophylaxis era? *Trends Pharmacol. Sci.* 25:306-310, (2004)
  47. Marsh J., Pratt J., Sacks S.: Targeting the complement system. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 8:557-562 (1999)
  48. Dong J., Pratt J., Smith R., Dodd I., Sacks S.: Strategies for targeting complement inhibitors in ischaemia/reperfusion injury. *Mol. Immunol.* 36:957-962 (1999)
  49. Hong Y., Zhou W., Li K., Sacks S.: Triplolide is a potent suppressant of C3, CD40 and B7h expression in activated human proximal epithelial cells. *Kidney Int.* 62:1291-1300 (2002)
  50. Liu Y., Cousin J., Van Dammen J.: Glucocorticoids promote nonphlogistic phagocytosis of apoptotic leucocytes. *J. Immunology* 162: 3669-3675 (1999)
  51. Κόκκας Β., Παπαδοπουλος Κ.Ι. Οξειδωτικοί παράγοντες και αντιοξειδωτικά φάρμακα. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.* 25 73-81 (1998)
  52. Κόκκας Β.: Θέματα Μοριακής Φαρμακολογίας. University Studio Press, Θεσσαλονίκη (2003)
  53. Rupp H., Zarain-Herzberg A., Maisch B.: The use of partial fatty acid oxidation inhibitors for metabolic therapy of angina pectoris and heart failure. *Hertz* 27:621-636 (2002)
  54. Grisham M.: A radical approach to treating inflammation. *Trends Pharmacol. Sci.* 21:119-121 (2000)
  55. Mocchegiani E., Muzzioli M., Giacconi R. Zinc and immunoresistance to infection in aging. New biological tools. *Trends Pharmacol. Sci.* 21: 205-208 (2000)

## Σχέσεις μηχανισμών φλεγμονής και πήξης του αίματος Φαρμακολογικοί στόχοι

Β. Α. Κόκκας, Π. Κ. Παπαδόπουλος και Κ. Α. Παπαδόπουλος  
Εργαστήριο Φαρμακολογίας και Β' Καρδιολογική Κλινική  
Ιατρική Σχολή Α.Π.Θ.

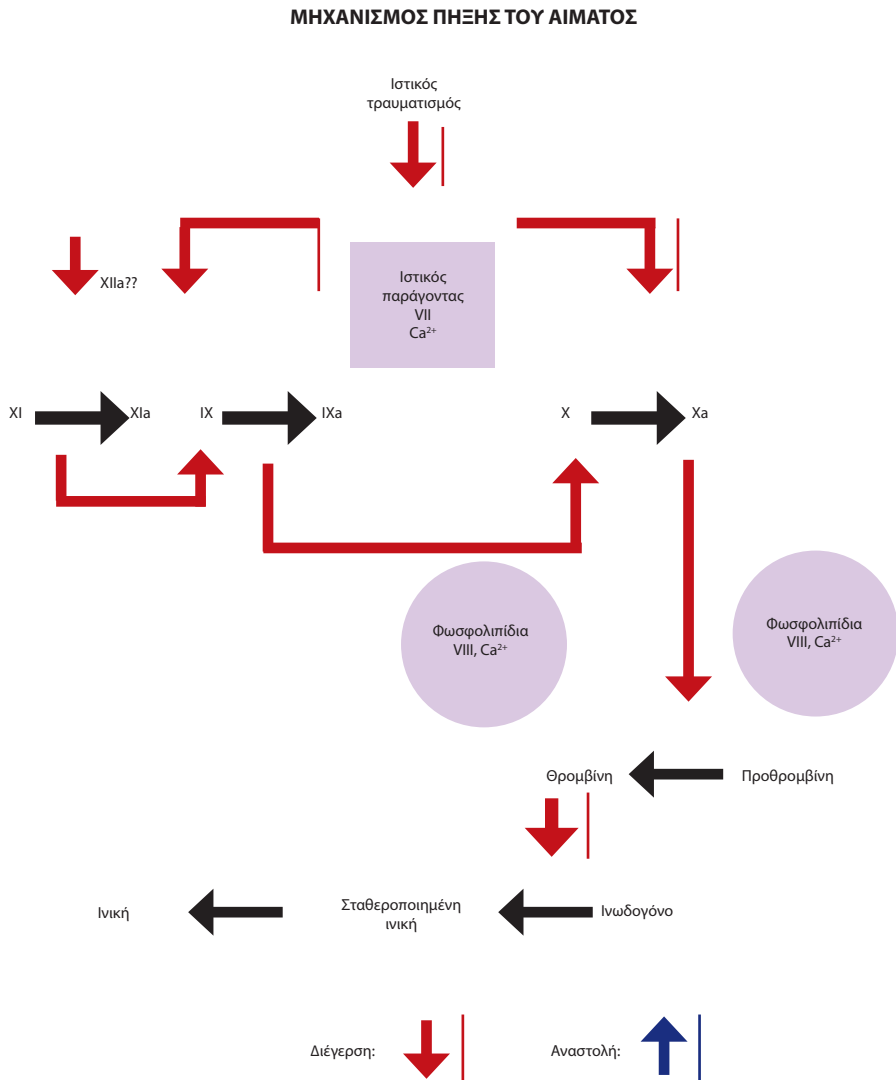
### περίληψη

Τόσο οι φλεγμονώδεις όσο και οι θρομβωτικές αντιδράσεις συνιστούν συστήματα επείγουσας κατάστασης σε κάθε ιστική βλάβη. Οι εκκινήσεις των δύο αυτών αντιδράσεων αποτελούν κινητικά φαινόμενα τα οποία όχι μόνο δεν διαχωρίζονται, αλλά έχουν και πολλά κοινά μοριακά σημεία και αλληλεπιδράσεις. Οι πρωτεΐνες οι οποίες συνιστούν τον καταρράκτη του μηχανισμού πήξης και οι αντίστοιχες της φλεγμονής συνεργάζονται με αρμονία και μεθοδεύουν, μεταξύ άλλων, την προσκόλληση των λευκοκυττάρων και των αιμοπεταλίων μεταξύ τους και με το ενδοθήλιο. Σήμερα είναι γνωστό ότι τα αιμοπετάλια πέραν του γνωστού τους ρόλου στην αιμόσταση και στη θρόμβωση, έχουν και ρόλο ενεργοποιητή στη διαδικασία της φλεγμονής. Από την άλλη πλευρά, η θρομβίνη με το να ενεργοποιεί τους υποδοχείς-*PARs* (*Protease-Activated Receptors*) στα ενδοθηλιακά κύτταρα συντονίζει τις αιμοστατικές και τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις τόσο των ενδοθηλιακών κυττάρων όσο και των άλλων κυττάρων. Τα μόρια που εμπλέκονται και στις δύο βιοχημικές αυτές αντιδράσεις αποτελούν κοινούς στόχους της φαρμακολογικής έρευνας. Πιστεύεται ότι μια κοινή αντιμετώπιση που θα αφορά τόσο τη φλεγμονή όσο και τη θρόμβωση θα έχει ευεργετικά αποτελέσματα και στα δύο προβλήματα.

### εισαγωγή

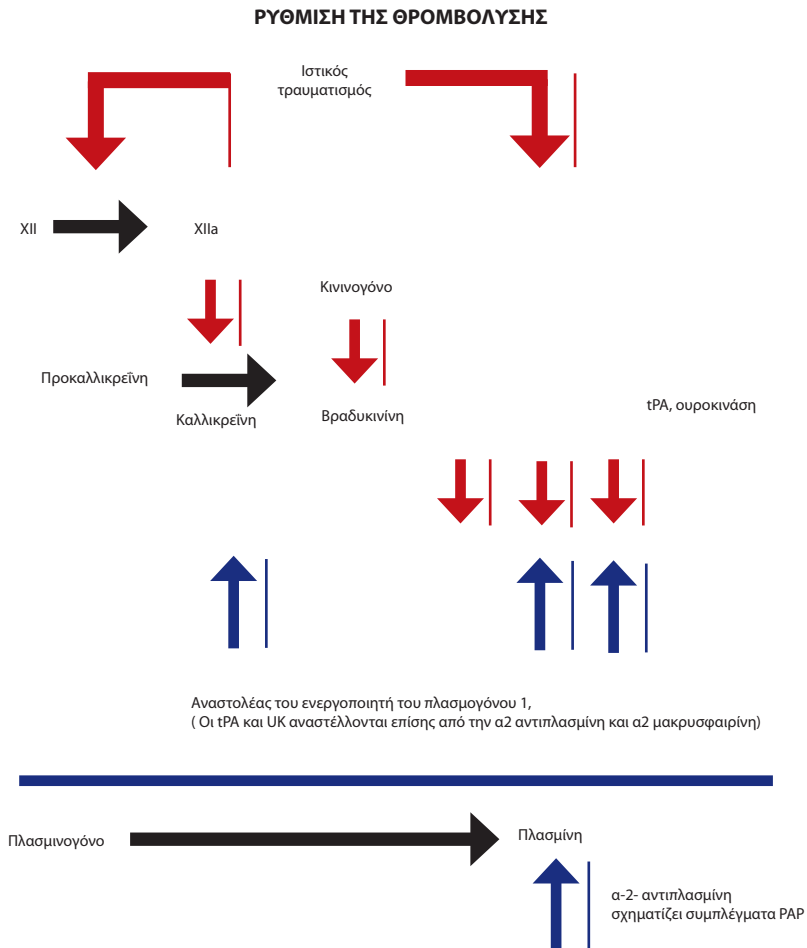
Είναι διαπιστωμένο ότι η αντίδραση μεταξύ των παθογόνων παραγόντων και των κυττάρων του ξενιστή καταλήγει συγχρόνως σε κινητοποίηση των βιοχημικών καταρρακτών τόσο της φλεγμονής όσο και της πήξης του αίματος. (1).

Στο πλάσμα υπάρχουν τρία συστήματα τα οποία παράγουν σχετιζόμενους με την πήξη μεσολαβητές. Αυτά είναι το σύστημα της πήξης του αίματος, το σύστημα των κινινών και το σύστημα του συμπληρώματος. Όλες οι ενδείξεις συνηγορούν στο γεγονός ότι τα συστήματα αυτά αλληλοεπικoi-



**Εικόνα 6.1: Μηχανισμός πήξης του αίματος.** Διακρίνονται οι ρόλοι του παράγοντα XII, του ιστικού παράγοντα, της θρομβίνης και του ινωδογόνου. Οι ίδιοι παράγοντες αναπτύσσουν και φλεγμονογόνες δράσεις.

*Internet - Medline (2005)*



**Εικόνα 6.2: Μηχανισμοί θρομβόλυσης.** Διακρίνονται, μεταξύ άλλων, ο ρόλος του παράγοντα XII στη σύνθεση της βραδυκίνης, κατ' εξοχήν ουσίας με φλεγμονώδη δράση, αλλά και ο ρόλος της τελευταίας στο μηχανισμό θρομβόλυσης.  
*Internet- Medline (2005)*

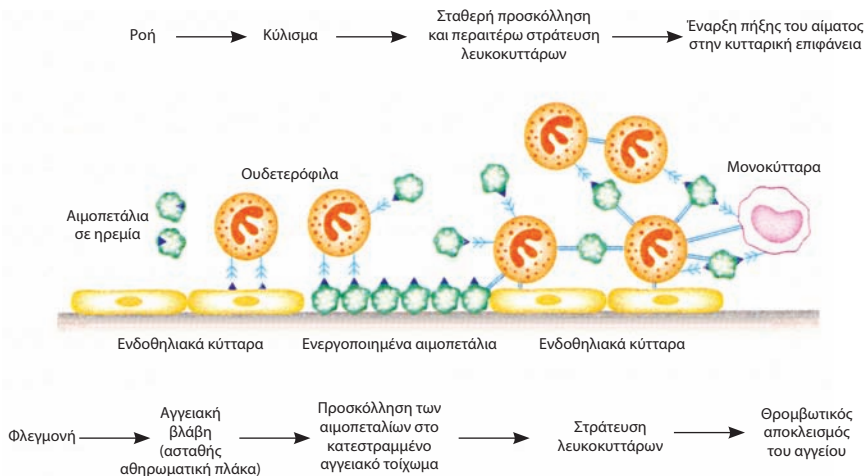
ωνούν και ότι η διέγερση του ενός οδηγεί σε διέγερση και των υπολοίπων. Επίσης, όλα τα ευρήματα συνηγορούν υπέρ του ότι τα συστήματα αυτά εμπλέκονται στους μηχανισμούς της φλεγμονής. Άπαξ και διεγερθούν οι μηχανισμοί φλεγμονής και πήξης, αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και επιτείνουν την ανοσιακή απόκριση.

Τόσο οι φλεγμονώδεις όσο και οι θρομβωτικές αντιδράσεις συνιστούν συστήματα επείγουσας απάντησης που αντιδρούν σε κάθε ιστική βλάβη. Παράλληλα, έχουν σημαντικό ομοιοστατικό ρόλο ακόμη και όταν δεν υπάρχει σοβαρή τραυματική βλάβη.

Ιδιαίτερα τα τελευταία χρόνια γίνονται όλο και περισσότερο κατανοητοί οι πολύπλοκοι μηχανισμοί πήξης και φλεγμονής και τα σημεία στα οποία οι δύο μηχανισμοί συνδέονται μεταξύ τους. Οι πρωτεΐνες οι οποίες συνθέτουν τον καταρράκτη των μηχανισμών πήξης και τα μόρια της φλεγμονής συνεργάζονται στενά, ώστε να μεθοδεύσουν την προσκόλληση λευκοκυττάρων, αιμοπεταλίων και ενδοθηλίου κατά τη διάρκεια των θρομβωτικών και των φλεγμονωδών εκδηλώσεων. Το αγγειακό ενδοθήλιο ρυθμίζει τους αιμοστατικούς μηχανισμούς μέσα από τη σύνθεση και απελευθέρωση ουσιών που άλλες προάγουν και άλλες αναστέλλουν τους μηχανισμούς αυτούς. Σε περιπτώσεις τραυματικής βλάβης του ενδοθηλίου οι ισορροπίες αυτές ανατρέπονται προς όφελος των πρώτων, ενώ κινητοποιούνται οι μηχανισμοί της φλεγμονής. Παράλληλα διεγείρεται ο ιστικός παράγοντας (TF: Tissue Factor) που κινητοποιεί τον όλο μηχανισμό πήξης του αίματος που θα οδηγήσει στο σχηματισμό της θρομβίνης και του ινώδους. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα συνθέτουν όμως και κυτταροκίνες και εκφράζουν στην επιφάνειά τους μόρια προσκόλλησης. Συγχρόνως τα αιμοπετάλια έχουν βασικό ρόλο στο να ενορχηστρώνουν τη διαδικασία της φλεγμονής (2,3).

## **ΤΑ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ ΩΣ ΕΝΟΡΧΗΣΤΡΩΤΕΣ ΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ**

Τα αιμοπετάλια, ως γνωστόν, έχουν τον κυρίαρχο ρόλο στους μηχανισμούς της αιμόστασης και της θρόμβωσης. Είναι γνωστό ότι ο τραυματισμός του ενδοθηλίου συνοδεύεται από αγγειόσπασμο, ελάττωση της τοπικής ροής του αίματος και προβολή της υπενδοθηλιακής στιβάδας. Στη φάση αυτή, μια διαλυτή πρωτεΐνη, γνωστή ως παράγοντας von Willebrand, αποσπάται από τον παράγοντα VIII πήξης του αίματος και προσκολλάται στην υπενδοθηλιακή στιβάδα. Από τη θέση αυτή καθίσταται δυνατή η έκθεση και προσφορά πολλαπλών θέσεων σύνδεσης για τη μεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη GP1b των αιμοπεταλίων. Η σύνδεση αυτή των αιμοπεταλίων με τον παράγοντα von Willebrand καθώς και η σύνδεσή τους με το κολλαγόνο και άλλους



**Εικόνα 6.3: Σχηματική παράσταση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων, των λευκοκυττάρων και των αιμοπεταλίων κατά την εξέλιξη της φλεγμονής, οι οποίες οδηγούν στην αγγειακή βλάβη και στο σχηματισμό του θρόμβου.** Όταν συμβαίνει μια φλεγμονώδης αντίδραση στο αγγειακό επίπεδο, τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια προσκολλώνται στο τραυματισμένο αγγειακό τοίχωμα και μπορούν να αντικαθιστούν τα ενδοθηλιακά κύτταρα στη στράτευση των λευκοκυττάρων. Τότε δημιουργούνται σταθεροί δεσμοί μεταξύ των αιμοπεταλίων και των λευκοκυττάρων μέσα από έναν καταρράκτη αντιδράσεων στις οποίες συμμετέχουν η P-σελεκτίνη (γκρίζα τρίγωνα), ο υποδοχέας της PSGL-1 (P-Selectin Glycoprotein Ligand-1) στα λευκοκύτταρα (γαλάζια διπλά βέλη) και η  $\beta_2$  ιντεγκρίνη ή Mac-1 (μπλέ διπλοί δεσμοί). Τα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα μπορούν να στρατεύσουν λευκοκύτταρα μέσω των σελεκτίνων που εκτίθενται στην επιφάνειά τους (ερυθρά τρίγωνα). Τα λευκοκύτταρα που κυκλοφορούν στον αυλό του αγγείου στην αρχή επιβραδύνουν τη ροή τους (κύλισμα) και στη συνέχεια προσκολλώνται σταθερά στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στα αιμοπετάλια. Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια προάγουν και ενισχύουν τις αντιδράσεις στα λευκοκύτταρα, όπως είναι η έκφραση της προπηκτικής δραστηριότητας των μονοκυττάρων μέσα από την έκθεση της P-σελεκτίνης. Αντίστροφα, τα λευκοκύτταρα απελευθερώνουν ουσίες όπως η G καθεψίνη και πρωτεολυτικά ένζυμα που διεγείρουν τα αιμοπετάλια και διασπούν τον ενδοθηλιακό φραγμό. Όταν συσσωρεύονται σε αυξανόμενο θρόμβο, τότε τα λευκοκύτταρα συμβάλλουν στην ενεργοποίηση των εισερχόμενων αιμοπεταλίων και στην έναρξη της διαδικασίας της πήξης.

*Trends Pharmacol. Sci. 24: 245-252 (2003)*

παράγοντες της υπενδοθηλιακής στιβάδας προκαλεί την πρόσφυση, αποσταθεροποίηση, διέγερση και συσσωρευση των κυττάρων αυτών. Εκτίθενται τότε πολλές θέσεις της γλυκοπρωτεΐνης GPIIb/IIIa των αιμοπεταλίων για περαιτέρω σύνδεση με τον παράγοντα von Willebrand και το ινωδογόνο. Συγχρόνως τα διεγερμένα αιμοπετάλια απελευθερώνουν από τα πυκνά κοκκία ουσίες όπως η διφωσφορική αδενοσίνη (ADP: Adenosine Diphosphate) που προκαλεί επιστράτευση παραπλεόντων αιμοπεταλίων, αποκάλυψη των γλυκοπρωτεϊνικών υποδοχέων τους (IIb/IIa) και συσσωρευση αυτών. Ακό-

μη απελευθερώνονται 5-υδροξυτρυπταμίνη και θρομβοξαίνη (TXA<sub>2</sub>) που επιτείνουν τον αγγειόσπασμο. Επίσης απελευθερώνεται Ca<sup>2+</sup> το οποίο είναι απαραίτητο για την ενεργοποίηση των πρωτεϊνών του μηχανισμού πήξης του αίματος. Παράλληλα, τα άλφα κοκκία απελευθερώνουν πρωτεΐνες της πήξης όπως το ινωδογόνο, η θρομβοσπονδίνη, η φιβρονεκτίνη και οι παράγοντες V και VIII. Στην επιφάνεια της αποσταθεροποιημένης μεμβράνης των αιμοπεταλίων εκτίθεται μια φωσφολιπιδική φωσφατιδυλσερίνη που ονομάζεται παράγοντας 3 (Platelet Factor 3) των αιμοπεταλίων. Ο παράγοντας αυτός αποτελεί βασικό ενεργοποιητή των διαλυτών πρωτεϊνών που μεθοδεύουν τους μηχανισμούς πήξης του αίματος. Μεταξύ άλλων, ο παράγοντας αυτός διεγείρει τον ενεργοποιητή της προθρομβίνης. Τέλος, τα αιμοπετάλια αυτά απελευθερώνουν τον αναστολέα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI: Plasminogen Activator Inhibitor) (4,5).

Σήμερα, πλέον, είναι παραδεκτό και αποδεδειγμένο ότι τα αιμοπετάλια ασκούν κεντρικό και ρυθμιστικό ρόλο στην εξέλιξη της φλεγμονής. Αυτό οφείλεται στο ότι είτε απελευθερώνουν ουσίες μεσοληβητές της φλεγμονής είτε εκφράζουν στην επιφάνειά τους μόρια που προάγουν τη φλεγμονή. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται ο προσδέτης CD40, ο αυξητικός παράγοντας των αιμοπεταλίων (PDGF: Platelet Derived Growth Factor), η θρομβοσπονδίνη, η P-σελεκτίνη, η θρομβοξαίνη και διάφορες ιντερλευκίνες (3,6).

### **Ο προσδέτης CD40**

Τα διεγερμένα αιμοπετάλια απελευθερώνουν τον προσδέτη ή πρόσφυμα CD40 (CD40L: CD40 Ligand) ο οποίος διεγείρει άμεσα τη φλεγμονώδη αντίδραση στο ενδοθήλιο και προάγει την έκφραση του ιστικού παράγοντα στα μονοκύτταρα. Ο CD40L περιέχεται κυρίως στα αιμοπετάλια και σε ποσοστό 90%, έχει δε παρατηρηθεί ότι σε παθολογικές καταστάσεις, όπως το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, αυξάνει η συγκέντρωση του ελεύθερου κλάσματος του στο αίμα. Παράλληλα, ο CD40L μπορεί να διεγείρει τα αιμοπετάλια μέσω του ιντεγκρινικού υποδοχέα GPIIb/IIIa και η παρουσία του φαίνεται ότι είναι απαραίτητη για τη σταθεροποίηση του αρτηριακού θρόμβου (3).

### **Ιδιότητες της P - σελεκτίνης**

Η οικογένεια των σελεκτινών αντιπροσωπεύει υποδοχείς οι οποίοι μεθοδεύουν τις αλληλεπιδράσεις των κυττάρων εκείνων που εμπλέκονται στην πορεία των λευκοκυττάρων, στους μηχανισμούς της θρόμβωσης και στους αντίστοιχους της φλεγμονής.

Η P- σελεκτίνη (GMP-140 ή CD62P ) απαντά στα κοκκία των αιμοπεταλίων και στα σωματίδια Weidell-Palade των ενδοθηλιακών κυττάρων του ανθρώπου. Μετά τη διέγερση από διάφορα φλεγμονώδη ερεθίσματα φεύγει



από τα κοκκία και εκφράζεται στην επιφάνεια των κυττάρων αυτών υποθάλποντας την πρόσφυση των ουδετερόφιλων και των μονοπύρηνων λευκοκυττάρων. Τα λευκοκύτταρα εκφράζουν στην επιφάνειά τους τον προσδέτη PSGL-1 (P-Selectin Glycoprotein Ligand-1) ο οποίος αντιδρά με τον υποδοχέα P-σελεκτίνη και με την αντίδραση αυτή προσκολλώνται και στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στα αιμοπετάλια που εκφράζουν στην επιφάνειά τους τη σελεκτίνη αυτή. Η προσκόλληση αυτή και το κύλισμα των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο προηγείται της σταθερής πρόσφυσης των τελευταίων και της διαπίδυσής τους, στη συνέχεια, δια του ενδοθηλίου προς την ιστική βλάβη. Παράλληλα και τα μονοκύτταρα συνδέονται τάχιστα με τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια μέσω της P-σελεκτίνης την οποία εκφράζουν στην επιφάνειά τους (3,7-9).

Υπερέκφραση της P-σελεκτίνης σε μοντέλα πειραματοζώων προκαλεί μια κατάσταση αυξημένης πηκτικότητας. Η κατάσταση αυτή αντιστρέφεται με την έγχυση της PSGL-1 η οποία δρα ως αναστολέας της P-σελεκτίνης. Επιπλέον, ουσίες οι οποίες μιμούνται την PSGL-1 παρουσιάζουν ευνοϊκά θεραπευτικά αποτελέσματα σε πειραματόζωα με θρομβοεμβολικά επεισόδια και αυτό χωρίς τη χορήγηση αντιπηκτικών φαρμάκων. Στα πειραματόζωα αυτά ελαττώθηκε η αυξημένη πηκτική διάθεση και υποχώρησε η φλεγμονή των φλεβικών τοιχωμάτων. Οι παρατηρήσεις αυτές δείχνουν ότι η θρόμβωση και η φλεγμονή αποτελούν βιολογικά αδιαχώριστες λειτουργικές διαδικασίες (3).

Η P-σελεκτίνη θα πρέπει να θεωρείται πλέον όχι μόνο ως δείκτης ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων και ως δείκτης εξέλιξης της φλεγμονής αλλά και ως άμεση εισαγωγός ουσία της ενεργοποίησης των προπηκτικών μηχανισμών που έχουν σχέση με τις αγγειακές και θρομβωτικές παθήσεις. Αντίθετα, ενώ προτάθηκε ότι και η E-σελεκτίνη μπορεί να έχει ρόλο στους μηχανισμούς της θρόμβωσης, αυτό μέχρι σήμερα δεν έχει αποδειχθεί (3).

Μια αναδυόμενη περιοχή ουσιώδους σημασίας και ενδιαφέροντος είναι ο ρόλος στον όλο μηχανισμό της θρόμβωσης του ιστικού παράγοντα (TF: Tissue Factor) ο οποίος ανευρίσκεται στο αίμα. Σύμφωνα με πρόσφατες αναφορές, έχει ευρεθεί στο αίμα του ανθρώπου ένα διαλυτό κλάσμα του TF. Έχει, επίσης, διαπιστωθεί ότι ο TF των μονοκυττάρων μπορεί να μεταφερθεί στα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια με τη μορφή μικροσωματιδίων και ότι στην περίπτωση αυτή η P-σελεκτίνη δρα ως υποδοχέας του παράγοντα αυτού. Τα ευρήματα αυτά μαρτυρούν ότι η P-σελεκτίνη έχει και στο επίπεδο αυτό σπουδαίο ρόλο τόσο κατά την πήξη του αίματος όσο και κατά την εξέλιξη της φλεγμονής (3).

Η ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (APC: Activated Protein C) η οποία εθεωρείται ότι δρα ως αντιπηκτική πρωτεΐνη, σήμερα έχει αποδειχθεί ότι διαθέ-

τει αντιφλεγμονώδεις και αντιαποπρωτικές ιδιότητες. Σε πειραματόζωα και συγκεκριμένα σε μοντέλα θρόμβωσης παρουσίασε νευροπροστατευτική δράση. Πιστεύεται ότι και η APC, όπως και ο TF, αναγνωρίζει συγκεκριμένο υποδοχέα στα κύτταρα στόχους, χωρίς να είναι γνωστό ποιος είναι αυτός, αν είναι ο ίδιος υποδοχέας, δηλαδή η P-σελεκτίνη, και αν η APC δρα ως αναστολέας του (3).

Υπενθυμίζεται ότι η θρομβομοδουλίνη είναι ο ενδοθηλιακός υποδοχέας της θρομβίνης. Όταν η θρομβομοδουλίνη συνδέεται με τη θρομβίνη, τότε το σύμπλοκο θρομβομοδουλίνη-θρομβίνη ενεργοποιεί την πρωτεΐνη C η οποία με τη σειρά της δρα ως αντιπηκτικός παράγοντας αδρανοποιώντας τους παράγοντες Va και VIIa (6,10).

### **Ο ρόλος της θρομβοξάνης**

Η θρομβοξάνη (TXA<sub>2</sub>) συντίθεται κυρίως από τα αιμοπετάλια με βάση τον κώδικα των πυρηνικών στοιχείων που τα κύτταρα αυτά περιέχουν. Σε μικρότερες ποσότητες συντίθεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η TXA<sub>2</sub> είναι ένα από τα προϊόντα μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος. Στην αρχή το αραχιδονικό οξύ υπό την επίδραση της κυκλοοξυγενάσης (COX: Cyclooxygenase) δίνει τα ασταθή κυκλικά ενδοϋπεροξειδία PGG<sub>2</sub> και PGH<sub>2</sub>. Στο τελευταίο επιδρά η συνθετάση της θρομβοξάνης και δίνει την TXA<sub>2</sub>, η οποία επίσης καταβολίζεται σε βραχύτατο χρόνο στο αδρανές προϊόν TXB<sub>2</sub> (11-15).

Πρόκειται για μία ουσία η οποία προάγει τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων και τον αγγειόσπασμο. Παράλληλα, συσπά τα ενδοθηλιακά κύτταρα και αυτό συμβάλλει στην αύξηση της διαπερατότητας των τριχοειδών κατά την εξέλιξη της φλεγμονής. Τις ενέργειες αυτές τόσο στα αιμοπετάλια όσο και στα ενδοθηλιακά κύτταρα τις προκαλεί αυξάνοντας το ελεύθερο ενδοκυττάριο Ca<sup>2+</sup> (16).

Η TXA<sub>2</sub> δεν είναι ο μόνος παράγοντας αιμοπεταλιακής προέλευσης που συμμετέχει στη φλεγμονή. Είναι γνωστό ότι υπάρχουν και άλλοι παράγοντες που συνδέονται με τους μηχανισμούς της φλεγμονής και τους μηχανισμούς της πήξης του αίματος. Ανάμεσα σε αυτούς περιλαμβάνεται και η οικογένεια της θρομβοσπονδίνης.

### **Δράσεις των θρομβοσπονδινών**

Οι θρομβοσπονδίνες (TPSs: Thrombospondins) αποτελούν μια οικογένεια εξωκυττάρων γλυκοπρωτεϊνών στρώματος οι οποίες έχουν εντοπισθεί και στα αιμοπετάλια και ασκούν διάφορες ενέργειες που αφορούν την προσκόλληση των κυττάρων, την κινητικότητα, τον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση (17).

Η θρομβοσπονδίνη-1 (TPS-1) θεωρείται μία παροδικά εκφραζόμενη πρωτεΐνη στρώματος η οποία προάγει τη χημειοταξία των λευκοκυττάρων στις περιοχές της φλεγμονής και τόσο αυτή όσο και ο υποδοχέας της CD36 εκφράζονται επαρκώς στις χρόνιες φλεγμονές. Ο υποδοχέας CD47 θεωρείται, επίσης, υποδοχέας για την TPS-1 στα T-λευκοκύτταρα. Πιστεύεται ότι το σύμπλοκο TPS-1/CD36/CD47 αποτελεί έναν συνδιεγερτικό παράγοντα ο οποίος ελαττώνει τον ουδό διέγερσης των λευκοκυττάρων (18).

Ειδικότερα για την TPS-1 έχει ευρεθεί ότι αντιδρά με πολλούς υποδοχείς επιφανείας ενεργοποιώντας τον τροποποιητικό αυξητικό παράγοντα βήτα (TGF-β: Transforming Growth Factor-β) και ότι αναστέλλει τη δράση πολλών πρωτεασών δημιουργώντας ενδοκυττάριο βιοχημικό σήμα. Ανάμεσα στα κύτταρα αυτά περιλαμβάνονται και τα ενδοθηλιακά κύτταρα και εδώ η δράση της είναι ανασταλτική όσον αφορά την αγγειογένεση. Είναι γνωστό ότι η αυξημένη διαβατότητα των τριχοειδών και η αγγειογένεση αποτελούν βασικά ευρήματα των φλεγμονωδών παθήσεων. Η δράση αυτή της TPS-1 ασκείται, όπως ήδη αναφέρθηκε, μέσω του υποδοχέα CD36 στα ενδοθηλιακά κύτταρα καθώς και μέσω άλλων πρωτεογλυκανικών υποδοχέων. Επίσης, ως υποδοχέας με ανάλογη συμπεριφορά αναφέρεται και η α3β1 ιντεγκρίνη. Και άλλες παρατηρήσεις αποδεικνύουν την ανασταλτική δράση της TPS-1 στον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων, ενώ αντίθετα παρατηρείται αύξηση του πολλαπλασιασμού των κυττάρων του μέσου χιτώνα των αγγείων (19-22, 23).

Άλλες παρατηρήσεις ομιλούν για το ότι η TPS-1 προάγει στα ενδοθηλιακά κύτταρα την αναδιοργάνωση της ακτίνης, μορίου απαραίτητου για τη σύσπαση των ενδοθηλιακών κυττάρων και την αυξημένη διαβατότητα του ενδοθηλίου κατά την εξέλιξη της φλεγμονής. Επίσης γίνεται αναφορά στην αυξημένη εξαγγείωση πρωτεϊνών και στη διαπίδυση των προσκολλημένων λευκοκυττάρων και γενικά στη δυσλειτουργία του ενδοθηλιακού φραγμού. Αυτό το επιτυγχάνει με μηχανισμό στον οποίο περιλαμβάνεται και η φωσφορλίωση της τυροσινικής κινάσης (24).

Αντίθετα, υπάρχουν αναφορές για την TPS-2 ότι ενώ είναι ισχυρός αναστολέας της αγγειογένεσης περιορίζει, ωστόσο, τη λευκοκυτταρική διήθηση, την έκταση και τη διάρκεια του οιδήματος κατά την οξεία και τη χρόνια φλεγμονή (22).

## **ΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΗΞΗΣ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ**

Όπως ήδη αναπτύχθηκε, τα αιμοπετάλια και οι πρωτεΐνες πήξης του αίματος που ασκούν ουσιώδη ρόλο στην αιμόσταση και τη θρόμβωση έχουν

πράγματι διπλό ρόλο ως εκκινήτες και ρυθμιστές της φλεγμονώδους διαδικασίας. Η θρομβίνη η οποία απελευθερώνεται κατά την ενδοθηλιακή βλάβη ασκεί τόσο προφλεγμονώδη όσο και φλεγμονώδη δραστηριότητα διεγείροντας τους υποδοχείς οι οποίοι ενεργοποιούνται από τις πρωτεάσες (PARs: Protease-Activated Receptors) και εντοπίζονται και στο ενδοθήλιο. Επίσης, το δίκτυο της ινικής που αναπτύσσεται, όπως ήδη αναφέρθηκε, αφενός περιορίζει την απώλεια αίματος, αφετέρου παγιδεύει και περιορίζει στο χώρο της ιστικής βλάβης διάφορα κύτταρα του αίματος που συμβάλλουν στη φλεγμονή όπως τα αιμοπετάλια, τα κοκκίωδη κύτταρα, τα μονοκύτταρα και τα λεμφοκύτταρα. Βασικό ρόλο έχουν ο παράγοντας πήξης του αίματος XII καθώς και ο ιστικός παράγοντας (25-27).

### **Ο παράγοντας XII**

Ο τραυματισμός του ενδοθηλίου που προκαλεί η φλεγμονή, και ιδιαίτερα η αρνητικά φορτισμένη υπενδοθηλιακή στιβάδα, ενεργοποιεί τον παράγοντα XII καθώς το αίμα έρχεται σε επαφή με το έσω τοίχωμα του αγγείου. Όπως είναι γνωστό, ο ιστικός παράγοντας και ο παράγοντας XII προκαλούν έναν καταρράκτη βιοχημικών αντιδράσεων καθώς οι παράγοντες πήξης του αίματος ενεργοποιούνται ο ένας μετά τον άλλο. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η μετατροπή της προθρομβίνης σε θρομβίνη και ο μετασχηματισμός του ινωδογόνου σε ινική (4).

Παράλληλα, ο παράγοντας XIIa μετατρέπει την προκαλλικρεΐνη σε καλλικρεΐνη. Η προκαλλικρεΐνη είναι ένα προένζυμο το οποίο κυκλοφορεί στο πλάσμα σε σύμπλοκο 1:1 με το μεγάλο M.B. κινινογόνο. Άπαξ και σχηματισθεί η καλλικρεΐνη, τότε με τη σειρά της επιταχύνει την ενεργοποίηση του παράγοντα XII. Στη συνέχεια, η καλλικρεΐνη και ο παράγοντας XIIa μετατρέπουν το κινινογόνο σε βραδυκίνη. Η βραδυκίνη είναι ένας βασικός μεσολαβητής της φλεγμονής και της θρομβόλυσης. Η τελευταία ιδιότητα οφείλεται στο ότι διεγείρει την απελευθέρωση του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (tPA: tissue Plasminogen Activator) από τα ενδοθηλιακά κύτταρα.

Επίσης, τα τραυματισμένα ενδοθηλιακά κύτταρα απελευθερώνουν και αυτά τον παράγοντα tPA. Παράλληλα, όμως, ο τραυματισμός του ενδοθηλίου και η φλεγμονή που ακολουθεί δρουν ανασταλτικά στο μηχανισμό θρομβόλυσης. Ειδικότερα, οι απελευθερούμενες κυτταροκίνες διεγείρουν την απελευθέρωση του PAI (Plasminogen Activator Inhibitor) από τα αιμοπετάλια και τα ενδοθηλιακά κύτταρα (4,5).

Τέλος, ο παράγοντας XII που διεγείρεται από τη θρομβίνη και το  $Ca^{2+}$  σταθεροποιεί το θρόμβο της ινικής δημιουργώντας ομοιοπολικούς δεσμούς μεταξύ των μορίων της τελευταίας.

### **Ιστικός παράγοντας**

Ο ιστικός παράγοντας (TF:Tissue Factor) είναι ένα σύμπλεγμα πρωτεΐνης και φωσφολιπιδίων το οποίο υπάρχει φυσιολογικά στα αγγειακά κύτταρα και στα ενεργοποιημένα μονοκύτταρα. Ο TF ενεργοποιείται από τον παράγοντα VII του οποίου αποτελεί τον υποδοχέα και αυτό γίνεται παρουσία  $Ca^{2+}$ .

Ο ενεργοποιηθείς TF προάγει τους μηχανισμούς πήξης του αίματος. Κυρίως επιταχύνει το σχηματισμό του παράγοντα  $Xa$ , ιδιαίτερα παρουσία του συνενζύμου  $VIIIa$ . Στη συνέχεια, ο παράγοντας  $Xa$  μετατρέπει την προθρομβίνη σε θρομβίνη. Η μετατροπή αυτή διευκολύνεται από την παρουσία του συνενζύμου  $Va$ .

Παράλληλα, ο ενεργοποιηθείς TF προάγει μηχανισμούς φλεγμονής. Το σύμπλοκο TF- παράγοντας VII ή το σύμπλοκο TF-παράγοντας VII- παράγοντας X οδηγεί στη διέγερση των υποδοχέων PARs για τους οποίους θα γίνει λόγος στη συνέχεια. Η δράση αυτών των συμπλόκων οδηγεί στο συμπέρασμα ότι οι μηχανισμοί της πήξης και της φλεγμονής ξεκινούν ταυτόχρονα και έχουν πορεία παράλληλη και με αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους (4,5).

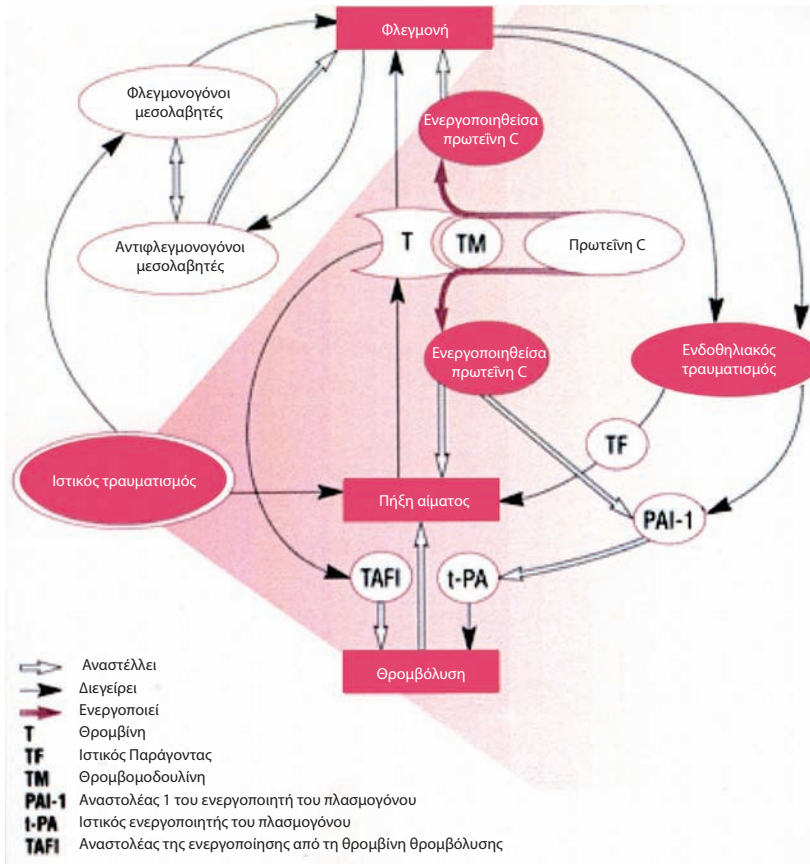
Τέλος και κατ' αντίστροφο τρόπο, οι κυτταροκίνες και κυρίως η φλεγμονογόνος κυτταροκίνη TNF- $\alpha$  διεγείρουν τον ιστικό παράγοντα ο οποίος είναι ο κύριος παράγοντας ενεργοποίησης του μηχανισμού πήξης του αίματος.

### **Ο ρόλος της θρομβίνης**

Η θρομβίνη, η οποία είναι μια ενζυμική πρωτεΐνη, παίζει έναν ρόλο κλειδί στον όλο πολύπλοκο μηχανισμό της αιμόστασης και πήξης του αίματος. Αφενός αποτελεί βασικό κλειδί του μηχανισμού ο οποίος προάγει το σχηματισμό του θρόμβου, αφετέρου έχει βασικό ρόλο σε δεύτερο χρόνο στην ανάσχεση του όλου καταρράκτη των βιοχημικών αντιδράσεων οι οποίες σχετίζονται με το μηχανισμό πήξης του αίματος. Παράλληλα, η θρομβίνη ασκεί προφλεγμονώδεις ή φλεγμονογόνες και φλεγμονώδεις δράσεις μέσα από μηχανισμούς οι οποίοι, μεταξύ άλλων, συνδέονται με τους υποδοχείς PARs οι οποίοι θα αναπτυχθούν σε άλλο κεφάλαιο.

Από τις κυριότερες ενέργειες της θρομβίνης που προάγουν την πήξη του αίματος είναι η επιτάχυνση της σύνθεσης με την ενεργοποίηση των συνενζύμων V και VIII και η ενεργοποίηση του παράγοντα XI ο οποίος προάγει τη σύνθεση των παραγόντων IXa και Xa. Επίσης, είναι η επιτάχυνση της συσώρευσης των αιμοπεταλίων. Τέλος, η θρομβίνη αποκόπτει το μόριο του ινωδογόνου δημιουργώντας μονομερή ινικής τα οποία με τη σειρά τους πολυμερίζονται και δημιουργούν τον τελικό θρόμβο.

Παράλληλα, η θρομβίνη ασκεί αντιθρομβωτικές δράσεις που αποσκοπούν στην περιστολή καταχρηστικής θρομβωτικής διαδικασίας σε απόσταση από την εστία της θρόμβωσης. Αυτές βασίζονται στο γεγονός ότι ενεργ-



**Εικόνα 6.4: Αλληλεπιδράσεις φλεγμονωδών και θρομβωτικών μηχανισμών.** Ο ρόλος της θρομβίνης είναι κομβικός.  
*Internet - Medline (2005)*

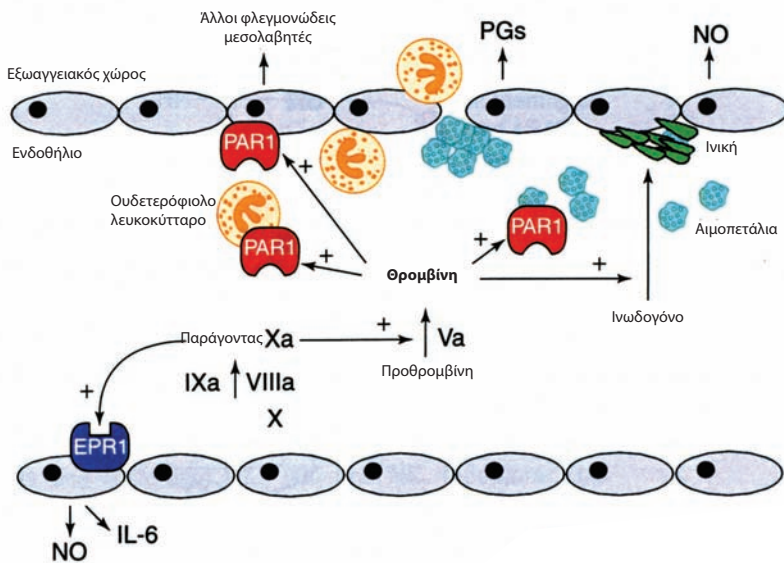
γοποιεί την πρωτεΐνη C και αυτός είναι ένας μηχανισμός εξισορρόπησης. Συγκεκριμένα το σύμπλοκο θρομβίνης-θρομβομοδουλίνης ενεργοποιεί την πρωτεΐνη C, η οποία με τη σειρά της αδρανοποιεί τους παράγοντες Va και VIIIa παρουσία της ενεργοποιημένης πρωτεΐνης S (5).

Ήταν γνωστό από παλαιότερα ότι η θρομβίνη ασκεί πολλές προφλεγμονώδεις ενέργειες μέσω ειδικών υποδοχέων. Η διέγερση των υποδοχέων αυτών στα ενδοθηλιακά κύτταρα δημιουργεί ενδοκυττάριο βιοχημικό σήμα το οποίο μεταβάλλει το σχήμα και τη διαβατότητα στα κύτταρα αυτά, ενώ

αυξάνει την ικανότητα πολλαπλασιασμού και τη δυνατότητα προσκόλλησης των λευκοκυττάρων (1).

Διεγείρει τα ενδοθηλιακά κύτταρα ώστε να παράγουν την προστακυκλίνη (PGI<sub>2</sub>: Prostacyclin) και τον ενεργοποιητικό παράγοντα των αιμοπεταλίων (PAF: Platelet Activating Factor), και να εκφράζουν την P-σελεκτίνη. Επίσης προάγει την απελευθέρωση του παράγοντα von Willebrand (VWF) και αυξάνει τη γονιδιακή έκφραση των υποδοχέων PAR-1 για τους οποίους θα γίνει λόγος στη συνέχεια, καθώς και διαφόρων αυξητικών παραγόντων και μεταλλοπρωτεϊνών στρώματος (1).

Επίσης ενεργοποιεί τα ενδοθηλιακά κύτταρα με έναν πιο καθυστερημένο αλλά σταθερό τρόπο μέσω πρωτεϊνικής σύνθεσης και η διέγερση αυτή



**Εικόνα 6.5: Η ενεργοποίηση των υποδοχέων PARs (Protease-Activated Receptors) από τη θρομβίνη αντιπροσωπεύει έναν δεσμό ανάμεσα στα βιοχημικά μονοπάτια της πήξης του αίματος και της φλεγμονής.** Η διέγερση των υποδοχέων PAR1 από τη θρομβίνη στα μεν ενδοθηλιακά κύτταρα οδηγεί στην απελευθέρωση προσταγλανδινών (PGs) και NO στα δε ουδετερόφιλα στη μετανάστευση των τελευταίων δια του ενδοθηλίου προς τον εξωαγγειακό χώρο. Η διέγερση από τη θρομβίνη των PAR1 στα αιμοπετάλια προκαλεί την προσκόλλησή τους στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στη συσσώρευσή τους. Ακολουθεί η διέγερση του μηχανισμού πήξης, ο σχηματισμός θρομβίνης η οποία ανακυκλώνει τους παραπάνω μηχανισμούς, ενώ παράλληλα μετατρέπει το ινωδογόνο σε ινώδες και το εναποθέτει στο ενδοθήλιο. Παράλληλα, ο παράγοντας πήξης του αίματος Xa διεγείρει άμεσα τα ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω της μη αιμοστατικής οδού δια των υποδοχέων EPR-1 (Effector Protease Receptor-1) και προάγει τη σύνθεση NO και IL-6, ενώ ο ίδιος παράγοντας προάγει τη μετατροπή της προθρομβίνης σε θρομβίνη μέσω της αιμοστατικής οδού.

*Trends Pharmacol. Sci. 21: 103-108 (2000)*

ονομάζεται τύπου II ενδοθηλιακή ενεργοποίηση. Μέσω αυτής προάγεται η έκφραση της E-σελεκτίνης και η σύνθεση χημειοκινών, όπως του χημειοτακτικού παράγοντα ιντελευκίνη II-8 και του χημειοτακτικού παράγοντα των μονοκυττάρων-1 (MCP-1: Monocyte Chemoattractant Protein-1) με μηχανισμούς ανεξάρτητους της IL-1α και του TNF-α. Με τους μηχανισμούς αυτούς και με τη χημειοταξία που ασκεί στα πολυμορφοπύρρηνα, η θρομβίνη αποτελεί σοβαρό παράγοντα για την εξέλιξη της οξείας φάσης της φλεγμονής (2).

Η θρομβίνη όμως είναι σημαντικός παράγοντας και για την ανάπτυξη της χρόνιας φλεγμονής καθ' όσον αποτελεί χημειοτακτικό παράγοντα και για τα μονοπύρρηνα. Η θρομβίνη διεγείρει την έκφραση του ICAM-1 και του VCAM-1 στα ενδοθηλιακά κύτταρα και προάγει την προσκόλληση των μονοκυττάρων στο ενδοθήλιο (2).

Η θρομβίνη είναι μια σερινοπρωτεάση του πλάσματος με M.B. 34000 η οποία υδρολύει τους δεσμούς 4 Arg-Gly μεταξύ των ινωδοπεπτιδίων και των α και β τμημάτων των Αβ και Ββ αλυσίδων του ινωδογόνου. Η απελευθέρωση αυτή των ινωδοπεπτιδίων από τη θρομβίνη οδηγεί στο σχηματισμό του μονομερούς του ινώδους και στην αποκάλυψη θέσεων δέσμευσης. Αυτό επιτρέπει στα μονομερή του ινώδους να συσσωρεύονται και να σχηματίζουν τον αδιάλυτο θρόμβο του ινώδους. Το πολυμερές και αδιάλυτο μόριο του ινώδους αποτελεί και την παγίδα για τα αιμοπετάλια, τα ερυθροκύτταρα και τα λοιπά στοιχεία που θα σχηματίσουν τον λευκό ή τον ερυθρό θρόμβο (28).

Η ενεργός θέση της θρομβίνης ευρίσκεται σε μία βαθιά σχισμή του μορίου της η οποία δημιουργείται από την αγκύλη-60 και την καταφυόμενη γ-αγκύλη. Η παρουσία των δύο αυτών αγκυλών περιορίζει την πρόσβαση στην ενεργό περιοχή, ενώ βοηθά στον προσδιορισμό της εκλεκτικότητας προς το υπόστρωμα και τις ουσίες που δρουν ως αναστολείς. Η σύνδεση με το υπόστρωμα και τους συμπαραγόντες γίνεται με τη μεσολάβηση προσεκβολών (exosite) του μορίου της. Τόσο το υπόστρωμα όσο και θέσεις επί των προσεκβολών αυτών προσδιορίζουν εν μέρει την εξειδικευμένη δράση της θρομβίνης σε κάθε περίπτωση. Δύο από τις βασικές προσεκβολές ευρίσκονται δίπλα στην ενεργό θέση και ονομάζονται προσεκβολές I και II συνδεδεμένες με ανιόντα. Η προσεκβολή I αναγνωρίζει το ινωδογόνο και την ινική και βοηθά στον καθορισμό της εξειδίκευσης του μορίου της θρομβίνης προς το υπόστρωμα του ινωδογόνου. Η προσεκβολή αυτή είναι υπεύθυνη για τη συσσώρευση και απομόνωση της θρομβίνης στους θρόμβους της ινικής. Με την προσεκβολή I αντιδρά και ο επιφανειακός υποδοχέας της θρομβομοδουλίνης στο ενδοθήλιο, εμποδίζοντας έτσι τη σύνδεση του ινωδογόνου και μεταβάλλοντας την προτίμηση του υποστρώματος προς την αντιπηκτική πρωτεΐνη C. Η προσεκβολή II παριστά τη θέση σύνδεσης της θρομβίνης με τις γλυκοζαμινογλυκάνες (29).



Το ινωδογόνο και οι υποδοχείς PARs αντιδρούν με τη θρομβίνη μέσω της προσεκβολής I. Οι παράγοντες XI και XIII και οι αναστολείς αντιθρομβίνη και νεξινική πρωτεάση χρησιμοποιούν την προσεκβολή II είτε για άμεσες αλληλεπιδράσεις είτε για γεφυρώσεις με τις γλυκοζαμινογλυκάνες και τους παράγοντες V και VIII. Η θρομβομοδουλίνη και ο συμπαράγοντας II της ηπαρίνης (HCII: Heparin Cofactor II) μπορούν να χρησιμοποιούν και τις δύο προσεκβολές. Ως εκ τούτου, η δραστηριότητα της θρομβίνης καθορίζεται από πολλαπλές αλληλεπιδράσεις και ποικίλλει ανάλογα με το πού ευρίσκεται και τι προσδέεται με το μόριό της (29).

Οι υποδοχείς PARs είναι τα βασικά μόρια τα οποία μεθοδεύουν τη συμμετοχή της θρομβίνης στην εξέλιξη της φλεγμονής. Οι υποδοχείς PARs φαίνεται να αποτελούν το κοινό σημείο επαφής μεταξύ των μηχανισμών πήξης και φλεγμονής (30).

### **Οι υποδοχείς PARs**

Οι υποδοχείς οι οποίοι ενεργοποιούνται από τις πρωτεάσες (PARs: Protease-Activated Receptors) και οι οποίοι εντοπίζονται και στο ενδοθήλιο και στο επιθήλιο ανήκουν στην κατηγορία των επταδιαμεμβρανικών υποδοχέων οι οποίοι συνδέονται με G-πρωτεΐνη. Η ενεργοποίησή τους εξαρτάται από την πρωτεολυτική δράση ενζύμων, όπως είναι η θρομβίνη, η τρυψίνη και πιθανόν και άλλες σερίνο-πρωτεάσες. Τα ένζυμα αυτά διασπούν κατά μη αντιστρεπτό τρόπο ειδικές θέσεις τις οποίες παρουσιάζει το αμινικό πέρας του εξωκυττάριου τμήματός τους. Μέχρι σήμερα έχουν αναγνωρισθεί τέσσερα ισόμορφα του υποδοχέα αυτού, τα PAR1, PAR2, PAR3 και PAR4. Οι PAR1 και PAR3 ενεργοποιούνται κυρίως από τη θρομβίνη, ο PAR2 από την τρυψίνη και ο PAR4 και από τη θρομβίνη και από την τρυψίνη. Το νέο N-πέρας το οποίο δημιουργείται μετά την αποκοπή του παλαιού πέρατος από τα παραπάνω ένζυμα, έρχεται και ενώνεται με τον ίδιο τον υποδοχέα, πιθανόν στο εξωκυττάριο τμήμα της δεύτερης αγκύλης του υποδοχέα αυτού, και τον ενεργοποιεί. Δηλαδή, πρόκειται ουσιαστικά για αυτοενεργοποιούμενο υποδοχέα (26,27,31-37).

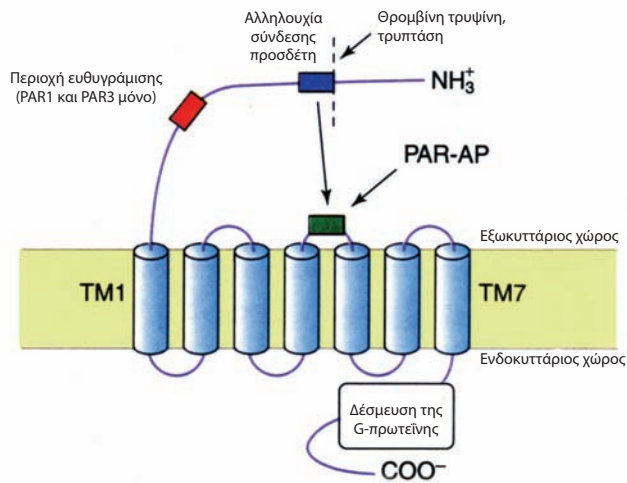
Πιστεύεται ότι οι διάφοροι υποτύποι του υποδοχέα PAR αποτελούν ένα κομμάτι του όλου οπλοστασίου που ο οργανισμός διαθέτει για να αντιμετωπίσει κάθε τραυματισμό ή παθογόνο εισβολέα. Η ενεργοποίηση *in vivo* των υποδοχέων-PARs προκαλεί όλα τα γνωστά σημεία της φλεγμονής, δηλαδή τον πόνο, το οίδημα, την ερυθρότητα, την αύξηση της θερμοκρασίας και τις γνωστές δυσλειτουργίες. Φαίνεται ότι οι υποδοχείς αυτοί ασκούν τόσο προφυλακτικό όσο και προφλεγμονώδη, καθώς, επίσης, και επολυτωτικούς ρόλους.

Οι PAR1 έχουν εντοπισθεί στην επιφάνεια των ουδετεροφίλων, των αιμο-

πεταλίων και των ενδοθηλιακών κυττάρων. Ειδικότερα τα αιμοπετάλια του ανθρώπου έχουν υποδοχείς PAR1, PAR4, όχι όμως και PAR3 (30,32).

Τρία μέλη της οικογένειας αυτής, οι PAR1, PAR2 και PAR4, θεωρούνται υποδοχείς της θρομβίνης. Οι προφλεγμονώδεις δράσεις της θρομβίνης φαίνεται να οφείλονται σε διέγερση των PAR1, ενώ πιθανόν υπάρχει κάποια συμμετοχή και των άλλων. Έχει παρατηρηθεί μεγάλη αύξηση του αριθμού των PAR2 στα ενδοθηλιακά κύτταρα παρουσία φλεγμονογόνων κυτταροκινών και LIPs (30).

Είναι γνωστό ότι η θρομβίνη η οποία απελευθερώνεται κατά την ενδοθηλιακή βλάβη και η οποία θεωρείται αγωνιστής των υποδοχέων- PAR ασκεί και προφλεγμονώδη δραστηριότητα πέραν του γνωστού ρόλου της στους μηχανισμούς πήξης του αίματος. Η προφλεγμονώδης αυτή δραστηριότητα σχετίζεται με την αγγειοδιαστολή, την αύξηση της διαπερατότητας των τριχοειδών στις πρωτεΐνες του πλάσματος και τη χημειοταξία και αποδίδεται σε διέγερση των υποδοχέων PAR1. Επίσης η θρομβίνη μέσω των PAR1 διεγείρει ποικίλα κύτταρα της φλεγμονής, όπως τα ιστιοκύτταρα, τα ουδετερόφιλα και τα λεμφοκύτταρα, ώστε να απελευθερώσουν ουσίες που προάγουν τη



**Εικόνα 6.6: Μηχανισμός αυτοενεργοποίησης των υποδοχέων οι οποίοι ενεργοποιούνται από τις πρωτεάσες (PARs: Protease-Activated Receptors).** Μετά την αποκοπή του αζωτούχου πέρατος του υποδοχέα από τη θρομβίνη, την τρυψίνη ή την τρυπτάση (ανάλογα με τον υποτύπο του υποδοχέα) αποκαλύπτεται μια νέα περιοχή του αζωτούχου πέρατος που λειτουργεί σαν προσδέτης. Ο νέος αυτός διαμορφούμενος προσδέτης έρχεται και διεγείρει τον ίδιο υποδοχέα (αυτοδιέγερση) στην εξωκυττάρια περιοχή σύνδεσης μεταξύ 4<sup>ου</sup> και 5<sup>ου</sup> διαμεμβρανικού τμήματος. Την ενέργεια αυτή μπορούν να μιμηθούν και μικρά πεπτίδια που προέρχονται από την αλληλουχία αυτή του αζωτούχου πέρατος.

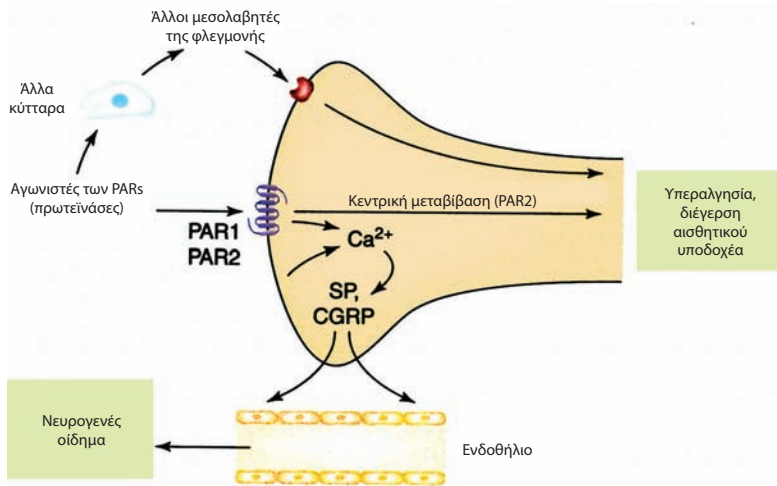
*Trends Pharmacol. Sci. 21: 170-173 (2000)*

φλεγμονή όπως είναι η ισταμίνη, τα εικοσανοειδή και οι κυτταροκίνες. Η ίδια ουσία μέσω των PAR1 προάγει και την επούλωση των ιστών επιτείνοντας τη νεοαγγειογένεση και την εναπόθεση κολλαγόνου (26,27).

Πιο συγκεκριμένα, η διέγερση των PAR1 των ενδοθηλιακών κυττάρων από τη θρομβίνη οδηγεί σε απελευθέρωση προσταγλανδινών (PGs) και NO, ενώ η διέγερση των ίδιων υποδοχέων στα ουδετερόφιλα από την ίδια ουσία οδηγεί στη μετανάστευση των τελευταίων δια του ενδοθηλίου προς τον εξωαγγειακό χώρο. Η αυξημένη έκφραση της P-σελεκτίνης στα ενδοθηλιακά κύτταρα και η χημειοτακτική δράση επί των ουδετεροφίλων φαίνεται να εμπλέκονται στη διαδικασία αυτή. Η διέγερση από τη θρομβίνη των PAR1 στα αιμοπετάλια προκαλεί την προσκόλλησή τους στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στη συσώρευσή τους. Ακολουθεί η διέγερση του μηχανισμού πήξης, ο σχηματισμός θρομβίνης η οποία ανακυκλώνει τους παραπάνω μηχανισμούς, ενώ παράλληλα μετατρέπει το ινωδογόνο σε ινώδες και το εναποθέτει στο ενδοθήλιο. Παράλληλα, μία πρωτεάση, ο παράγοντας Χα, διεγείρει άμεσα τα ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω της μη αιμοστατικής οδού δια των υποδοχέων EPR-1 (Effector Protease Receptor-1: υποδοχέας 1 της δραστικής πρωτεάσης) και προάγει τη σύνθεση NO και IL-6, ενώ ο ίδιος παράγοντας προάγει τη μετατροπή της προθρομβίνης σε θρομβίνη μέσω της αιμοστατικής οδού (30).

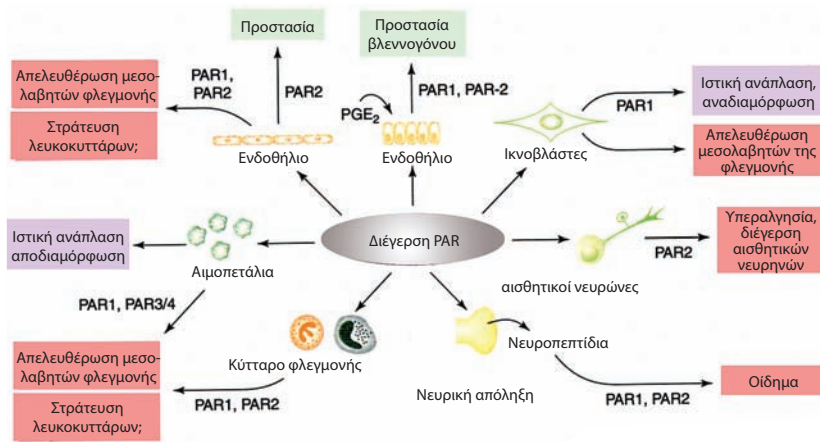
Αναφορές υπάρχουν και για το ρόλο του υποδοχέα PAR2. Η παρουσία του PAR2 στο ενδοθήλιο φαίνεται να σχετίζεται με τη βιοχημική οδό η οποία οδηγεί σε αγγειοδιαστολή. Παράλληλα, ο υποδοχέας- PAR2 φαίνεται ότι διεγείρεται από τις κυτταροκίνες της φλεγμονής. Σε πειραματόζωα μάλιστα έχει ευρεθεί ότι οι φλεγμονογόνες κυτταροκίνες ιντερλευκίνη-1 και TNF-α προάγουν την έκφραση μόνο του PAR2 και όχι των άλλων υποτύπων. Ο PAR2 εκφράζεται επίσης σε μεγάλο βαθμό στα κύτταρα της φλεγμονής, όπως τα ουδετερόφιλα και τα σιτευτικά κύτταρα, και πιθανόν σχετίζεται με τους μηχανισμούς ενεργοποίησης και αποκοκκίωσης. Η απελευθερούμενη κατά την αποκοκκίωση των σιτευτικών κυττάρων τρυπτάση έχει τη δυνατότητα να αποκόπτει τον υποδοχέα PAR2, γεγονός που οδηγεί στην ενεργοποίησή του. Αντίθετα, οι ενδείξεις είναι ότι αυτός ο υποτύπος υποδοχέα δεν σχετίζεται με τους μηχανισμούς της αιμόστασης. Ο υποδοχέας- PAR2 εντοπίζεται, επίσης, στις απολήξεις των αισθητικών νεύρων μαζί με το προφλεγμονώδες νευροπεπτίδιο ουσία P και το ανοσοαντιδραστικό πεπτίδιο το οποίο σχετίζεται με το γονίδιο της καλσιτονίνης (CGRP: Calcitonin Gene Related Peptide). Η παρουσία του ως συν-φλεγμονώδους υποδοχέα σχετίζεται με την ενεργοποίηση των νευρικών ινών που περιέχουν τις ουσίες αυτές και την απελευθέρωσή τους, την ανάπτυξη της νευρικής φλεγμονής και τον πόνο που εκδηλώνεται από την απελευθέρωση της ουσίας P (26,27,31).





**Εικόνα 6.8: Οι υποδοχείς οι οποίοι ενεργοποιούνται από τις πρωτεάσες (PARs: Protease-Activated Receptors) στις αισθητικές απολήξεις.** Οι PAR1 και PAR2 ευρίσκονται στις απολήξεις των αισθητικών νευρών και μετά τη διέγερσή τους το βιοχημικό σήμα που ξεκινά προάγει την απελευθέρωση ενδοκυττάριου Ca<sup>2+</sup>. Το αποτέλεσμα είναι η απελευθέρωση νευροπεπτιδίων από τις νευρικές απολήξεις τα οποία, διεγείροντας ομόλογους υποδοχείς στο ενδοθήλιο, προάγουν τη διαστολή των τελευταίων και την αύξηση της διαπερατότητάς τους η οποία οδηγεί στο σχηματισμό οιδήματος. Ειδικότερα, η διέγερση των PAR2 στις αισθητικές απολήξεις προάγει την κεντρική μεταφορά βιοχημικού σήματος και προκαλεί τη διέγερση αισθητικών νευρώνων στο επίπεδο του νωτιαίου μυελού, μεθοδεύοντας το αίσθημα της υπεραλγησίας.  
*Trends Pharmacol. Sci. 22: 146-152 (2001)*

Είναι γνωστό ότι το σύμπλοκο TF-παράγοντας VII μπορεί να ενεργοποιεί τον παράγοντα X ο οποίος με τη σειρά του αντιπροσωπεύει ένα σημαντικό βήμα στο μηχανισμό της πήξης του αίματος. Όπως ήδη έχει αναφερθεί, το σύμπλοκο των παραγόντων TF-VIIa ή των παραγόντων TF-VIIa-Xa κινητοποιεί το βιοχημικό μονοπάτι της φλεγμονής με το να αποκόπτει τους υποδοχείς PAR-1 και PAR-2. Πρόκειται δηλαδή, για ενέργεια αντίστοιχη με εκείνη που προκαλεί η θρομβίνη. Τα ευρήματα αυτά ενισχύουν την πεποίθηση ότι η έναρξη της πήξης του αίματος και η αντίστοιχη της φλεγμονής αποτελούν γεγονότα που συζεύγγονται κινητικά. Η πεποίθηση αυτή ενισχύεται ακόμη περισσότερο από το γεγονός ότι ο αναστολέας της βιοχημικής οδού του ιστικού παράγοντα (TFPI: Tissue Factor Pathway Inhibitor) ελαττώνει τόσο τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις όσο και τα θρομβωτικά φαινόμενα (3).



**Εικόνα 6.9: Φλεγμονογόνες και προστατευτικές δράσεις των υποδοχέων οι οποίοι ενεργοποιούνται από τις πρωτεάσες (PARs: Protease-Activated Receptors).** Οι υποδοχείς PARs εκφράζονται σε μεγάλο βαθμό στα ενδοθηλιακά κύτταρα, στα αιμοπετάλια, στα κύτταρα της φλεγμονής, στα επιθηλιακά κύτταρα, στους ινοβλάστες και στους αισθητικούς νευρώνες. Ανάλογα με το είδος του κυττάρου, η διέγερση των υποδοχέων-PARs μπορεί να οδηγήσει είτε σε προστατευτικές ενέργειες (πράσινο) είτε σε αναπλάσεις ιστών (μπλε) ή σε φλεγμονώδη φαινόμενα όπως οίδημα, στράτευση των λευκοκυττάρων, υπεραλγησία και διέγερση των αισθητικών νευρώνων (ερυθρό). *Trends Pharmacol. Sci. 22: 146-152 (2001)*

### Ο ρόλος του ινωδογόνου

Κατά την εξέλιξη της φλεγμονής, τα ενεργοποιημένα μακροφάγα απελευθερώνουν κυτταροκίνες οι οποίες διεγείρουν τη σύνθεση του ινωδογόνου στο ήπαρ. Η θρομβίνη και ο παράγοντας XIIIa που δημιουργούνται στο σημείο της ιστικής βλάβης μετατρέπουν το ινωδογόνο σε ινική. Το δίκτυο της ινικής που αναπτύσσεται περιορίζει αφενός την απώλεια αίματος, αφετέρου παγιδεύει διάφορα κύτταρα του αίματος που συμβάλλουν στη φλεγμονή, όπως είναι τα αιμοπετάλια, τα κοκκίωδη κύτταρα, τα μονοκύτταρα και τα λεμφοκύτταρα, και τα περιορίζει στο χώρο της ιστικής βλάβης. Εάν η φλεγμονή δεν οφείλεται σε μηχανική βλάβη αλλά σε μικροβιακά ή καρκινικά αίτια, τότε το δίκτυο της ινικής εμποδίζει τη διασπορά των αιτίων που την προκαλούν (25).

Τα μόρια προσκόλλησης των κυττάρων (CAM: Cell Adhesion Molecules) αυτών όταν ενεργοποιούνται παρουσιάζουν μεγάλη συγγένεια προς το ινωδογόνο και την ινική. Το CAM των αιμοπεταλίων είναι μια ιντεγκρίνη (αIIb3) που αναγνωρίζει τα τελικά 12 υπόλοιπα του C-πέρατος των γ-αλυσίδων της κυρίαρχης μορφής του ινωδογόνου και της ινικής. Από τις ιντεγκρίνες των

ουδετεροφίλων, των μονοκυττάρων και των λεμφοκυττάρων, η μία  $\alpha_M\beta_2$  (CD11b/CD18, Mac-1) αναγνωρίζει τα  $\gamma$ 190-202 και  $\gamma$ 377-395 στον τομέα D του ινωδογόνου και της ινικής. Η άλλη,  $\alpha\beta_2$  (CD11c/CD118,p150/95) αναγνωρίζει μια αλληλουχία Gly-Pro-Arg στο N-πέρας των  $\alpha$ -αλυσίδων της ινικής. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα εκφράζουν δύο υποδοχείς για το ινωδογόνο και την ινική, την  $\alpha_V\beta_3$  ιντεγκρίνη που πιστεύεται ότι αναγνωρίζει αλληλουχίες Arg-Gly-Asp στην  $\alpha$ -αλυσίδα του ινωδογόνου και της ινικής και το ICAM-1 που αναγνωρίζει τη  $\gamma$ 117-130. Ως εκ τούτου, ένας μεγάλος αριθμός κυττάρων της φλεγμονής έχει υποδοχείς για το ινωδογόνο και την ινική και καθώς τα μόρια αυτά είναι δισθενή/πολυσθενή, τα κύτταρα αυτά μπορούν να δεσμεύονται το ένα με το άλλο αυξάνοντας την παρουσία τους εκεί για μία παρατεταμένη περίοδο (25).

Τα ανοίγματα που δημιουργούνται στο ενδοθήλιο και διευκολύνουν τη διάβαση των εμμόρφων στοιχείων οφείλονται κατά ένα μέρος στην αύξηση των μεσοκυττάρων διαστημάτων λόγω της σύσπασης των ενδοθηλιακών κυττάρων. Το ινωδογόνο και η ινική βοηθούν την προσπάθεια αυτή των ενδοθηλιακών κυττάρων με χημικούς και φυσικούς τρόπους. Όπως αναφέρθηκε ήδη σε άλλο κεφάλαιο, τρία πεπτιδιά τους, τα FpB, F $\beta$ 1-42 και  $\beta$ 15-42 προάγουν τη διαδικασία αυτή χημικά, ενώ παράλληλα προάγουν τη χημιοταξία των λευκοκυττάρων. Επίσης, καθώς το αναπτυσσόμενο σύμπλοκο ινικής και αιμοπεταλίων συρρικνώνεται, αναπτύσσεται τάση στις δομές όπου το σύμπλοκο αυτό έχει εγκατασταθεί. Αυτό βοηθεί την απαγκίστρωση του ενός ενδοθηλιακού κυττάρου από το αντίστοιχο γειτονικό του και με τον τρόπο αυτό προάγεται η είσοδος νέων μορίων και κυττάρων από τον αγγειακό χώρο προς το χώρο της ιστικής βλάβης (25).

Πολλές άλλες διαδικασίες που επηρεάζουν την έναρξη, την πρόοδο, τη διατήρηση και την ύφεση της φλεγμονής υποβοηθούνται από πεπτιδιά που προέρχονται από το ινωδογόνο και την ινική.

Το ινωδογόνο και η ινική έχουν ρόλο κλειδί στην εξέλιξη και την αποδρομή της φλεγμονής. Οι διαδικασίες που μεθοδεύονται από αυτά περιλαμβάνουν σήμα προς τα ενδοθηλιακά κύτταρα, ώστε να οργανώνουν το θρόμβο και να απελευθερώνουν τον παράγοντα von Willebrand και διάφορους αυξητικούς παράγοντες, ετοιμασία των λείων μυϊκών ινών να συσπώνται, καταστολή των λειτουργιών των λεμφοκυττάρων, αναστολή της ενεργοποίησης της θρομβίνης και της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων και ρύθμιση της σύνθεσης αυτού του ιδίου του ινωδογόνου από τα ηπατικά κύτταρα (25).

## ΑΝΟΣΙΑΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

### **Ανοσιακά σύμπλοκα αντιγόνου-αντισώματος**

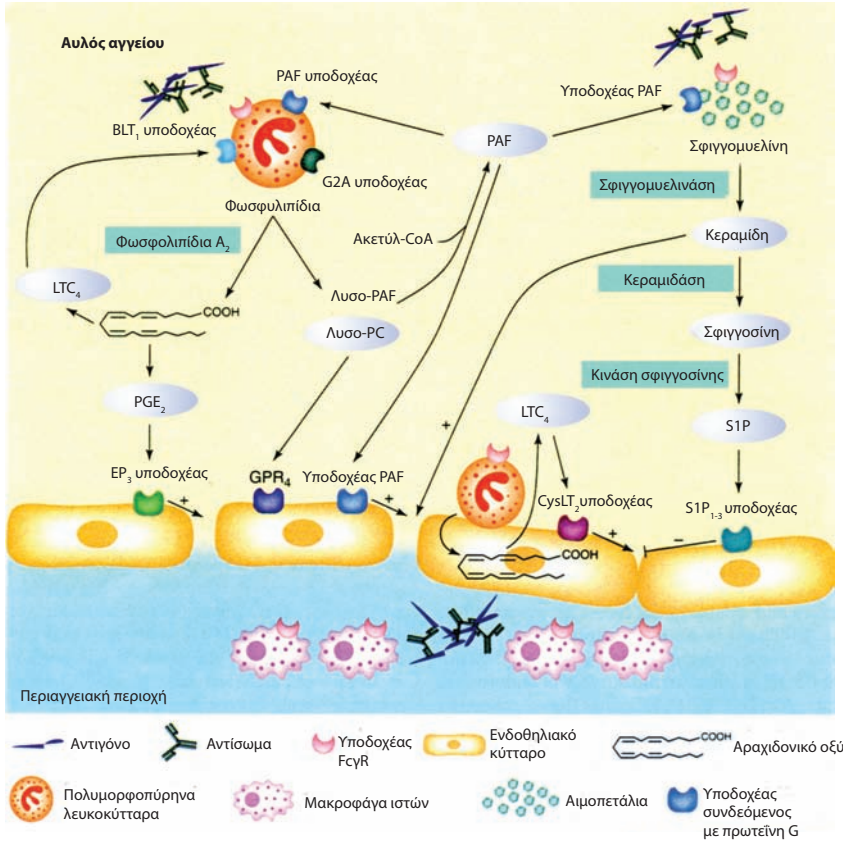
Τα ανοσιακά σύμπλοκα (IC: Immune Complexes) αντιγόνου-αντισώματος που οφείλονται είτε στην έκθεση σε εξωγενή αντιγόνα είτε σε αυτοάνοσες καταστάσεις μπορεί να σχηματισθούν ενδοαγγειακά και περιαγγειακά και να προκαλέσουν με το σχηματισμό τους ιστική βλάβη μέσω της προαγωγής φλεγμονογόνων μηχανισμών. Αρχικά παρατηρείται διαρροή του πλάσματος η οποία ακολουθείται από την επιστράτευση των πολυμορφοπυρήνων που μεθοδεύεται από τις χημειοκινίνες μέσω μηχανισμών που εξαρτώνται από FcγR-υποδοχέα (Fc Receptor for immunoglobulin G). Τον υποδοχέα αυτό διαθέτουν τα μακροφάγα των ιστών, τα λευκοκύτταρα και τα αιμοπετάλια. Η διέγερση του συγκεκριμένου υποδοχέα κινητοποιεί την αναδιαμόρφωση των φωσφολιπιδίων και τον καταρράκτη του αραχιδονικού οξέος στα κύτταρα αυτά.

Στα πολυμορφοπύρηνα, η διέγερση του υποδοχέα αυτού προάγει τη συγκόλληση των κυττάρων αυτών με τα ενδοθηλιακά μέσω της ενεργοποίησης  $\beta_2$ -ιντεγκρινών. Επίσης, από τις απελευθερούμενες ουσίες διεγείρεται η σύνθεση του PAF από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Παράλληλα, αυξάνεται η διαβατότητα του ενδοθηλίου από τις απελευθερούμενες  $PGE_2$ , LTs, PAF και κεραμίδη, που είναι προϊόν της διέγερσης των αιμοπεταλίων (24).

Τα αιμοπετάλια του ανθρώπου διαθέτουν τους υποδοχείς FcγRIIA των οποίων προσδέτες είναι τα αντισώματα που είναι ενσωματωμένα στο ανοσιακό σύμπλοκο IC. Η ενεργοποίηση αυτή των αιμοπεταλίων οδηγεί στη συγκόλλησή τους με τα λευκοκύτταρα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω των ιντεγκρινών. Επίσης τα αιμοπετάλια απελευθερώνουν τη σφιγγομυελίνη η οποία μετατρέπεται τελικά σε φωσφορική-1-σφιγγοσίνη (S1P: Sphingosine-1-Phosphate), η οποία με τη σειρά της διεγείρει του υποδοχείς της (S1P-R: S1P-Receptors) οι οποίοι ελαττώνουν τη διαβατότητα των αγγείων και προάγουν την επιβίωση των ενδοθηλιακών κυττάρων (24).

Η εξέλιξη των ιστικών βλαβών επηρεάζεται από μεσολαβητές που απελευθερώνονται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, όπως οι ενδοθηλίνες και το οξειδίο του αζώτου, και δρουν με παρακρινή τρόπο, ενώ παράλληλα διεγείρουν το σύστημα πήξης του αίματος. Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και η διέγερση των μηχανισμών πήξης του αίματος εξισορροπείται συνήθως από την παράλληλη ενεργοποίηση του συστήματος ινωδόλυσης. Αν δεν συμβεί αυτό και δεν υπάρξει εξισορρόπηση, τότε οι μηχανισμοί αυτοί θα οδηγήσουν αργότερα σε ινώσεις και οργανικές αναδιαμορφώσεις (24).

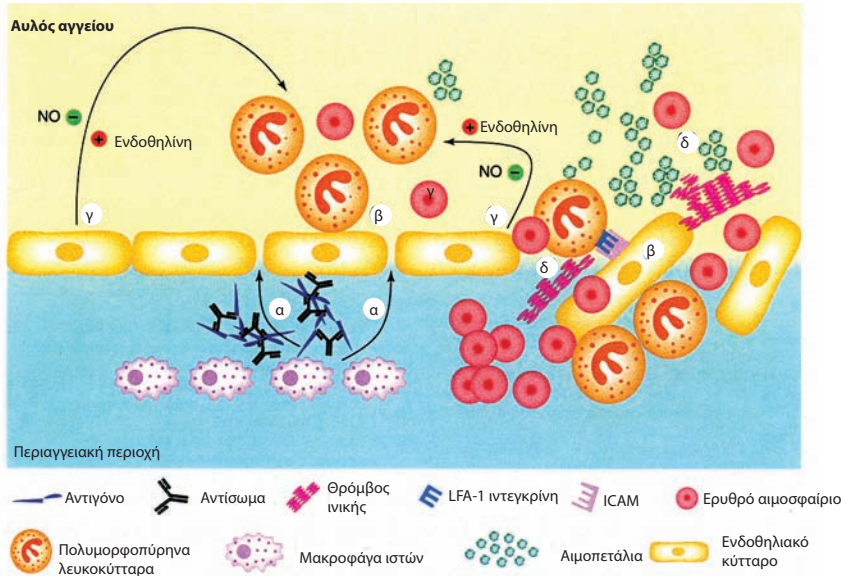




**Εικόνα 6.10: Μηχανισμοί ενεργοποίησης της αναδιαμόρφωσης των φωσφολιπιδίων και διέγερσης του καταρράκτη του αραχιδονικού οξέος από το σύμπλοκο αντιγόνου-αντισώματος.**

Τα λευκοκύτταρα, τα αιμοπετάλια και τα μακροφάγα διεγείρονται από το σύμπλεγμα αντιγόνου-αντισώματος μέσω των υποδοχών Fc (FcγR) της ανοσοσφαιρίνης G (IgG) με αποτέλεσμα να ενεργοποιείται η αναδιαμόρφωση των φωσφολιπιδίων και να διεγείρεται ο καταρράκτης του αραχιδονικού οξέος. Αυτό έχει ως συνέπεια την παραγωγή μιας ποικιλίας λιπιδικών μεσολαβητών οι οποίοι, με τη σειρά τους, διεγείρουν τόσο τα κύτταρα του αίματος όσο και τα ενδοθηλιακά κύτταρα με τους εξής μηχανισμούς: (1) Δρουν ως εξωκυττάριοι δευτεροί αγγελιαφόροι. (2) Περιορισμό της διαβατότητας των αγγείων από τη φωσφορική-1-σφιγγοσίνη. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πολυμορφοπύρηνων Λευκοκυττάρων (PMNs) και των ενδοθηλιακών κυττάρων δύνανται να οδηγήσουν σε διακυτταρική σύνθεση CysLTs όπως της λευκοτριένης C<sub>4</sub> (LTC<sub>4</sub>) και σε παρακρινή δράση μέσω των υποδοχών της CysLT<sub>2</sub>.

Το (+) υποδηλώνει αποχωρισμό των ενδοθηλιακών συνδέσεων και αύξηση της αγγειακής διαβατότητας και το (-) το αντίθετο. Τα λιπίδια με το μωβ χρώμα υποδηλώνουν αυτά που ασκούν παρακρινική σηματοδότηση. Τα ένζυμα που συμμετέχουν σε βιοσυνθετικούς δρόμους χρωματίζονται πράσινα. BLT<sub>1</sub>: υποδοχέας της λευκοτριένης B<sub>2</sub>, EP<sub>3</sub>: υποδοχέας προστανοϊδίων, G2A: υποδοχέας της λυσοφωσφατιδυλχολίνης, GPR4: επίσης υποδοχέας της λυσοφωσφατιδυλχολίνης, Lyso-PAF: λυσο-πάργοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων, Lyso-PC: λυσοφωσφατιδυλχολίνη, LTB<sub>4</sub>: λευκοτριένη B<sub>4</sub>. *Trends Pharmacol. Sci.* 25: 512-517 (2004)



**Εικόνα 6.11: Αλληλοδιαδοχή βημάτων με τα οποία το ανοσιακό σύμπλεγμα (IC: Immune Complex) προκαλεί τον ιστικό τραυματισμό και φαρμακολογικοί στόχοι.** (α) Εξαγγείωση του πλάσματος ως αποτέλεσμα του σχηματισμού του IC. (β) Επιστράτευση των λευκοκυττάρων στον περιαγγειακό χώρο από μηχανισμούς που μεθοδεύονται από τον υποδοχέα FCγR της ανοσοσφαιρίνης G (IgG). (γ) Παράλληλος συντονισμός της φλεγμονώδους αντίδρασης από το ενδοθήλιο μέσω παρακρινώς δρώντων μεσολαβητών όπως το NO. (δ) Βλάβη του ενδοθηλίου από μηχανισμούς που εξαρτώνται από τα πολυμορφοπύρρηνα (PMN), οι οποίοι οδηγούν σε αιμορραγία και διεγείρουν τους μηχανισμούς της πήξης και της θρομβόλυσης. (+) υποδηλώνει την ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων από την ενδοθηλίνη. (-) υποδηλώνει την ανασταλτική δράση του NO τόσο στα λευκοκύτταρα όσο και στα αιμοπετάλια. ICAM: Διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης, LFA-1: Μόριο-1 συνδεδεμένο με τη λειτουργία των λευκοκυττάρων.

*Trends Pharmacol. Sci. 25: 512-517 (2004)*

## ΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ PPARs

Οι υποδοχείς που ενεργοποιούνται από τον πολλαπλασιαστή των υπεροξεισωματίων (PPAR: Peroxisome Proliferator Activated Receptors) είναι μεταγραφικοί παράγοντες που υπάρχουν σε διάφορες ισομορφές. Οι PPAR ενεργοποιούμενοι σχηματίζουν ετεροδιμερή με τον ρετινοειδή-Χ-υποδοχέα (RXR: Retinoid-X-Receptor). Το ετεροδιμερές PPAR- RXR συνδέεται με το αντίστοιχο στοιχείο ανταπόκρισης στην περιοχή του προαγωγέα του γονιδίου στόχου (38-41).

Μέχρι σήμερα έχει διαπιστωθεί η ύπαρξη τριών διαφορετικών γονιδίων που κωδικοποιούν αντίστοιχα τους υποδοχείς PPAR<sub>α</sub>, PPAR<sub>β/δ</sub> και PPAR<sub>γ</sub>. Οι PPAR<sub>α</sub>-υποδοχείς ευρίσκονται δομικά στο κυτταρόπλασμα και οι PPAR<sub>γ</sub>-

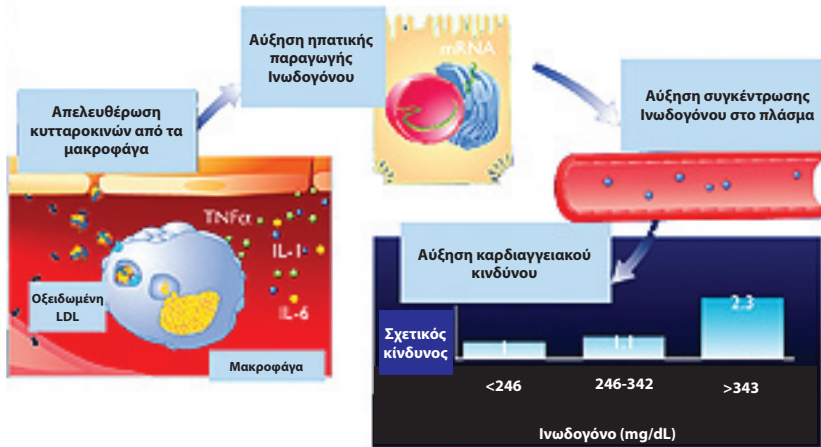
υποδοχείς στον πυρήνα. Οι υποδοχείς-PPAR $_{\alpha}$  ευρίσκονται σε μεγάλη συγκέντρωση στους ιστούς όπου υπάρχει έντονος καταβολισμός των λιπιδίων, όπως είναι το ήπαρ. Επίσης οι υποδοχείς αυτοί ενεργοποιούν βιοχημικούς δρόμους οι οποίοι δρουν ανασταλτικά στη δράση του φλεγμονογόνου μεταγραφικού παράγοντα NF-κB. Οι υποδοχείς-PPAR $_{\gamma}$  ρυθμίζουν την κυτταρική διαφοροποίηση, τη λιπογένεση και τη δράση της ινσουλίνης. Δεν είναι γνωστή η βιολογική δράση που μεθοδεύεται από τους υποδοχείς-PPAR $_{\beta/\delta}$  και ο κυριότερος λόγος είναι ότι δεν έχει ευρεθεί μέχρι σήμερα βιολογική ή συνθετική ουσία που να συνδέεται εκλεκτικά με αυτούς, ώστε να καταστεί δυνατή η μελέτη τους (39-41).

Η αθηρωμάτωση είναι μία χρόνια φλεγμονώδης διαδικασία η οποία είναι στενά συνδεδεμένη με θρομβωτικά φαινόμενα. Πολλές πρόσφατες αναφορές συνδέουν την άμεση ή έμμεση εμπλοκή των υποδοχέων-PPARs στα σύνθετα αυτά φαινόμενα. Αυτό μπορεί να αφορά τη σχέση με παράγοντες ή μηχανισμούς που προάγουν ή αναστέλλουν την αθηρωματογόνο διαδικασία και κατ'επέκταση τους κινδύνους θρομβωτικών φαινομένων ή την άμεση σχέση με φλεγμονώδεις ή θρομβωτικούς παράγοντες.

Η σχέση των υποδοχέων-PPARs με δυνητικούς παράγοντες της θρόμβωσης αναφέρεται πολλαπλώς. Οι φιβράτες, οι οποίες είναι αγωνιστές των PPAR $_{\alpha}$  -υποδοχέων, έχουν αντιαθηρωματικές και αντιθρομβωτικές ιδιότητες διότι δρουν αρνητικά σε μεσολαβητές των μηχανισμών πήξεως του αίματος και θετικά σε αντίστοιχους μεσολαβητές της ινωδόλυσης. Παράλληλα, δρουν ανασταλτικά και στους διαμεσολαβητές της φλεγμονής, όπως οι φλεγμονογόνες κυτταροκίνες II-1 και II-6 (ILs:Interleukins: ιντερλευκίνες). Υπάρχουν επίσης ενδείξεις ότι τόσο οι φιβράτες όσο και οι στατίνες ελαττώνουν τη διέγερση των αιμοπεταλίων (42).

Μεταξύ άλλων, έχει διαπιστωθεί ότι η φαινοφιβράτη, η σιπροφιβράτη και η βεζαφιβράτη προκαλούν ελάττωση των επιπέδων του ινωδογόνου στον άνθρωπο. Η δράση τους οφείλεται σε διέγερση των υποδοχέων PPAR $_{\alpha}$ , με αποτέλεσμα οι τελευταίοι να δρουν ανασταλτικά στην αντιαποπρωτική οδό που μεθοδεύεται από τον μεταγραφικό παράγοντα NF-κB. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τα μακροφάγα να οδηγούνται σε απόπτωση και να μειώνεται η απελευθέρωση κυτταροκινών από αυτά. Όπως ήδη αναφέρθηκε, οι κυτταροκίνες αυτές, μεταξύ των οποίων και ο TNF- $\alpha$ , προάγουν τη σύνθεση του ινωδογόνου από το ήπαρ.

Ακόμη η βεζαφιβράτη αυξάνει την ενεργότητα του αναστολέα του ενεργοποιητή του PAI, ενώ η σιπροφιβράτη δεν έχει καμία ενέργεια. Αντίθετα, η τρογλιταζόνη, ουσία αγωνιστής των υποδοχέων-PPAR $_{\gamma}$ , ελαττώνει τα επίπεδα του PAI σε ασθενείς που πάσχουν από διαβήτη τύπου-2 και σε γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα διαθέτουν



**Εικόνα 6.12: Μακροφάγα και σύνθεση του ινωδογόνου κατά την εξέλιξη της φλεγμονής. Αριστερά:** Κατά την εξέλιξη της φλεγμονής, τα ενεργοποιημένα μακροφάγα απελευθερώνουν κυτταροκίνες οι οποίες διεγείρουν τη σύνθεση του ινωδογόνου στο ήπαρ. **Δεξιά:** Οι φιβράτες προκαλούν ελάττωση των επιπέδων του ινωδογόνου στον άνθρωπο. Η δράση τους οφείλεται σε διέγερση των υποδοχέων PPAR $\alpha$  με αποτέλεσμα οι τελευταίοι να δρουν ανασταλκτικά στην αντιαποπτωτική οδό που μεθοδεύεται από τον μεταγραφικό παράγοντα NF- $\kappa$ B. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τα μακροφάγα να οδηγούνται σε απόπτωση και να μειώνεται η απελευθέρωση κυτταροκινών από αυτά και ως εκ τούτου και η σύνθεση του ινωδογόνου από το ήπαρ. *Chinetti G. et al. J. Biol. Chem. 273:25573 (1998)*

υποδοχείς-PPARs. Έχει ευρεθεί ότι αγωνιστές των υποδοχέων αυτών όπως τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και η προσταγλανδίνη- $J_2$  μπορούν να αυξάνουν την έκφραση του PAI στα κύτταρα αυτά με μηχανισμό που δεν είναι γνωστός (41, 44).

Οι ουσίες που διεγείρουν τους PPAR $\alpha$ -υποδοχείς έχουν, όπως ελέχθη, άμεσες αντιφλεγμονώδεις δράσεις που αφορούν το αγγειακό τοίχωμα. Έχουν επίσης και έμμεσες αντιφλεγμονώδεις δράσεις, διότι αυξάνουν τα επίπεδα πλάσματος της αντιφλεγμονώδους λιποπρωτεΐνης HDL. Η HDL αναστέλλει την έκφραση πολλών CAMs όπως του αγγειακού κυτταρικού μορίου προσκόλλησης-1 (VCAM-1: Vascular Cell Adhesion Molecule-1) του ενδοκυττάριου μορίου προσκόλλησης-1 (ICAM: Intracellular Adhesion Molecule-1) και της E-σελεκτίνης των διεγερθέντων ενδοθηλιακών κυττάρων. Η δράση αυτή της HDL οφείλεται στο ότι αναστέλλει τη σφιγγοσινική κίνηση των ενδοθηλιακών κυττάρων. Το ένζυμο αυτό είναι απαραίτητο για τη διεγερτική δράση του προφλεγμονώδους παράγοντα TNF- $\alpha$ , δράση η οποία αφορά την έκφραση των ενδοθηλιακών CAMs. Όλα αυτά έχουν σχέση με την πρόοδο της φλεγμονής του αγγειακού τοιχώματος και τους κινδύνους θρόμβωσης (45).

Η ατορβαστατίνη διεγείρει τους υποδοχείς- PPAR<sub>γ</sub> στα μονοκύτταρα και ελαττώνει τις αντιδράσεις τους στα φλεγμονώδη ερεθίσματα. Είναι γνωστό ότι κατά τη διαφοροποίηση των μονοκυττάρων προς μακροφάγα, τα γονίδια τα οποία έχουν την υψηλότερη έκφραση είναι αυτά που έχουν σχέση με το μεταβολισμό των λιπιδίων. Ίσως ο έλεγχος του λιπιδικού μεταβολισμού να αποτελέσει ένα σημείο αντιφλεγμονώδους προσέγγισης (46).

Έχει επίσης ευρεθεί ότι οι αγωνιστές των PPAR<sub>α</sub> –υποδοχέων, όπως η φαινοφιβράτη, έχουν την ικανότητα να βελτιώνουν τη λειτουργικότητα των ενδοθηλιακών κυττάρων σε υπερτασικούς ποντικούς με το να μετριάζουν την υπερέκφραση της κυκλοοξυγενάσης-1 (COX-1: Cyclooxygenase-1), ενζύμου το οποίο είναι υπεύθυνο για την εξέλιξη του βιοχημικού καταρράκτη του αραχιδονικού οξέος (47,48).

## ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ

Οι βιοχημικές αντιδράσεις οι οποίες αφορούν την εξέλιξη της φλεγμονής και της θρόμβωσης αλληλεπιδρούν σε πολλά σημεία και υπάρχουν σήμερα, όπως ήδη αναπτύχθηκε, πολλοί κοινοί μηχανισμοί. Η αναγνώριση των βασικών μοριακών μηχανισμών που εμπλέκονται στην αλληλοεπικοινωνία και στην αλληλεξάρτηση των δύο αυτών παθολογικών καταστάσεων θα δώσει στόχους και νέες ευκαιρίες στη φαρμακολογική έρευνα. Πιστεύεται ότι η αντιφλεγμονώδης θεραπεία μπορεί να περιορίσει τα θρομβωτικά φαινόμενα και ότι η αντιθρομβωτική αγωγή μπορεί να περιορίσει την αγγειακή φλεγμονή.

Τα φάρμακα που αναστέλλουν τους μηχανισμούς πήξης του αίματος διακρίνονται σε αυτά που δρουν στα πρώτα στάδια και σε αυτά που δρουν στα μεθύτερα στάδια του γνωστού βιοχημικού καταρράκτη που οδηγεί στο σχηματισμό του θρόμβου (31,49,50,51).

Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν εκείνα που αναστέλλουν το σύμπλεγμα TF- παράγοντα Va, όπως ο TFPI (Tissue Factor Pathway Inhibitor) οι αναστολείς της ενεργού πλευράς του παράγοντα VIIa (ASIS, FFR-rFVIIa ή FVIIai), η rNAPc2 (recombinant Nematode anticoagulant protein c2) και οι αναστολείς της ενδογενούς δεκάσης (anti-FIXa aptamers). Στη δεύτερη κατηγορία ανήκουν οι αναστολείς του παράγοντα Xa, όπως η ηπαρίνη, η ηπαρίνη μικρού M.B. και τα πενταπεπτίδια. Επίσης σε μεθύτερα βιοχημικά μονοπάτια δρουν η ηπαρίνη, έμμεσα τα παράγωγα της δικουμαρόλης και οι αναστολείς της θρομβίνης, όπως η μεγαλατράνη, η αργατροβάνη και άλλα.

Τα φάρμακα που δρουν ανασταλτικά στη διέγερση και συγκόλληση των αιμοπεταλίων διακρίνονται, ως γνωστόν, στους αναστολείς της σύνθεσης

της θρομβοξάνης (TXA<sub>2</sub>), σε εκείνα που αναστέλλουν τη σύσπασή τους, στους αποκλειστές των υποδοχέων της διφωσφορικής αδενοσίνης (ADP) και στους αποκλειστές των υποδοχέων της GPIIb/IIIa γλυκοπρωτεΐνης. Οι αντιαιμοπεταλιακοί παράγοντες αποτελούν τμήμα του συνόλου των θεραπευτικών σχημάτων που εφαρμόζονται στις θρομβωτικές καταστάσεις τόσο στην οξεία φάση όσο και στη μετέπειτα χρόνια αγωγή. Οι παράγοντες αυτοί χρησιμοποιούνται επίσης προφυλακτικά στην προσπάθεια περιορισμού των ισχαιμικών επεισοδίων σε ασθενείς υψηλού κινδύνου (49,52).

Είναι γνωστό ότι η ασπιρίνη είναι ένας ευρείας χρήσης αντιφλεγμονώδης και αντιαιμοπεταλιακός παράγοντας, χορηγείται προφυλακτικά στην ασταθή στηθάγχη και μετά από επεμβάσεις αορτοστεφανιαίας παράκαμψης (bypass). Υπάρχουν απόψεις, σήμερα, οι οποίες υποστηρίζουν ότι οι προφυλακτικές αντιθρομβωτικές της ιδιότητες οφείλονται εν μέρει και στις αντίστοιχες αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές της. Επίσης, γνωστό είναι και το πρόβλημα της αντίστασης στην ασπιρίνη το οποίο προφανώς οφείλεται στο γεγονός ότι η ασπιρίνη δεν αναστέλλει όλους τους μηχανισμούς διέγερσης και συγκόλλησης των αιμοπεταλίων (2).

Ακόμη είναι γνωστό ότι οι στατίνες, πέραν των γνωστών υπολιπιδαιμικών ιδιοτήτων τους, έχουν αντιφλεγμονώδεις και αντιθρομβωτικές ιδιότητες. Έγινε ήδη αναφορά και θα ακολουθήσει εκτενέστερη στο επόμενο κεφάλαιο για ό,τι είναι γνωστό για τους εμπλεκόμενους μηχανισμούς. Οι αντιφλεγμονώδεις, πάντως, δράσεις τους φαίνεται να σχετίζονται εν μέρει με ανταγωνισμό προς τη CRP (C Reactive Protein).

Καινοτόμοι φαρμακολογικές προσεγγίσεις στον ερευνητικό τομέα σε κυτταρικό και μοριακό επίπεδο προσπαθούν να εντοπίσουν στόχους για θεραπευτικές παρεμβάσεις σε καταστάσεις θρομβώσεων και θρομβοεμβολικών επεισοδίων. Το ζητούμενο είναι η ανεύρεση νέων φαρμάκων και η είσοδός τους στις διάφορες φάσεις των κλινικών δοκιμασιών. Ο πολυμορφισμός των μορίων που εμπλέκονται στους μηχανισμούς αυτούς είναι ένα άλλο πρόβλημα που πιθανόν θα διαφοροποιεί σε ορισμένες περιπτώσεις και σε ατομικό επίπεδο κάθε φαρμακολογική προσέγγιση (2,9).

Υπάρχουν ήδη ευρήματα σύμφωνα με τα οποία η APC, για την οποία έχει γίνει αναφορά, δρώντας άμεσα προλαμβάνει τον κυτταρικό θάνατο και βελτιώνει την επιβίωση των κυττάρων. Σε πειραματόζωα στα οποία αναπτύχθηκε θρομβωτικό μοντέλο, η χορήγηση της APC είχε ευνοϊκά αποτελέσματα. Η δράση της φαίνεται να έχει μάλλον ανταγωνιστική σχέση με τον αποπτωτικό παράγοντα p53 και τους υποδοχείς PARs, χωρίς να αναφέρονται περισσότερες λεπτομέρειες. Το εύρημα αυτό δίνει τη βάση για μια δυνητική θεραπευτική προσέγγιση σε κάθε περίπτωση ισχαιμικού τραυματισμού. Επίσης, η χορήγηση ανασυνδυασμένης APC σε περιπτώσεις πειραματικής σπινθηρίωσης

σε ζώα από Gram αρνητικά μικρόβια υπήρξε αποτελεσματική. Είναι γνωστό ότι οι σφαιμαίες αυτού του είδους όπου τα φλεγμονώδη φαινόμενα είναι καταλυτικά οδηγούν σε θρομβωτικά επεισόδια. Είναι γνωστό, επίσης, ότι η ανασυνδυασμένη APC έχει ιδιότητες μείζονος ρυθμιστή της αντιπηκτικής βιοχημικής οδού (2).

Για την καρβοϋδρική εκλεκτικότητα του PSCL-1, αποκλειστή του υποδοχέα P-σελεκτίνη, έχει ήδη γίνει λόγος. Μέχρι σήμερα έχουν συντεθεί διάφορες ουσίες που μιμούνται τον PSCL-1 και οι οποίες δοκιμάζονται σε πειραματόζωα. Στα πειραματόζωα αυτά στα οποία προκλήθηκαν πειραματικά θρομβώσεις και στα οποία δεν έγινε αντιπηκτική αγωγή, τα παράγωγα αυτά έδωσαν ενθαρρυντικά αποτελέσματα (2).

Η χορήγηση ενδοαρτηριακά αντισωμάτων ενάντια στην TSP-1 διευκόλυνε την επαναενδοθηλίωση και ελάττωσε τη σύνθεση νέου μέσου χιτώννα ύστερα από την εφαρμογή ενδοαρτηριακού μπαλονιού. Πρόκειται για εύρημα το οποίο μπορεί να αποτρέψει την επαναστένωση του αγγείου σε ανάλογες επεμβάσεις (22).

Πιστεύεται ότι η καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών που σχετίζονται με τους υποδοχείς-PAR θα μπορέσει να βοηθήσει στη σύνθεση ουσιών για εκλεκτικές φαρμακολογικές παρεμβάσεις στους αγγειοδιασταλτικούς μηχανισμούς που δραστηριοποιούνται με τη φλεγμονή, χωρίς να υπάρχουν ανεπιθύμητες ενέργειες από πλευράς μηχανισμών πήξης του αίματος. Η παρουσία επίσης του υποδοχέα PAR2 και η συνύπαρξή του με την ουσία P στις αισθητικές νευρικές απολήξεις θα μπορούσε να οδηγήσει στην ανάπτυξη εκλεκτικών αναλγητικών φαρμάκων. Χρειάζεται όμως προσοχή, γιατί υπάρχουν πολλά κενά στις γνώσεις για τη δράση του υποδοχέα αυτού, ενώ παράλληλα είναι γνωστό ότι ο ίδιος υποδοχέας ασκεί προστατευτικές ενέργειες στο δέρμα και η εξουδετέρωσή του μπορεί να δημιουργήσει άλλα προβλήματα (25,26,30-32,33,37).

Όσον αφορά τις δυνατότητες παρεμβάσεων στους υποδοχείς PPARs με φιβράτες, στατίνες και γλιταζόνες, υπάρχουν τα ευρήματα από πειράματα και οι παρατηρήσεις από την κλινική χρήση των μεν δύο πρώτων ουσιών ως αντιλιπιδαιμικών φαρμάκων της δε τρίτης ως αντιδιαβητικής ουσίας. Το μέλλον θα δείξει.

Το γεγονός ότι το ενδοθήλιο εμπλέκεται είτε θετικά είτε αρνητικά τόσο στους μηχανισμούς της φλεγμονής όσο και στους αντίστοιχους της θρόμβωσης το καθιστά στόχο φαρμακολογικών παρεμβάσεων. Αναφορές έγιναν για το θέμα αυτό σε προηγούμενα κεφάλαια και θα γίνουν και στα επόμενα (26-33).

Οι αντιδράσεις που δημιουργούνται από το σχηματισμό του ανοσιακού συμπλόκου αποτελούν στόχους για μελλοντικές φαρμακολογικές παρεμβά-

σεις. Ο πρώτος στόχος αφορά τους μηχανισμούς εξόδου του πλάσματος. Αυτό θα εμποδίσει, μεταξύ άλλων, την άφιξη των αυτοαντισωμάτων στους ιστούς και την ανάπτυξη της ιστικής βλάβης. Ο δεύτερος στόχος αφορά την επιστράτευση των λευκοκυττάρων μέσω των μηχανισμών ενεργοποίησης των υποδοχέων FcγR. Χρειάζεται μελέτη για να διευκρινισθεί τι βιοχημικά σήματα εκπέμπουν και ποιους μεσολαβητές ακριβώς απελευθερώνουν. Μεταξύ άλλων, ο ενδοθηλιακός φραγμός ρυθμίζεται από τους λιπιδικούς μεσολαβητές που απελευθερώνονται από τα κύτταρα αυτά μέσω των παραπάνω υποδοχέων. Ο τρίτος στόχος αφορά την αντιμετώπιση των μεσολαβητών που απελευθερώνονται από το ενδοθήλιο και οι οποίοι επηρεάζουν τον αγγειακό τόνο, την ενεργοποίηση των κυττάρων του αίματος και την αναδιαμόρφωση των εξωκυττάρων πρωτεϊνών στρώματος. Τέλος, ο τέταρτος στόχος αφορά την αντιμετώπιση της βλάβης του ενδοθηλίου από τους μηχανισμούς που εξαρτώνται από τα πολυμορφοπύρηνα (24).



**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ**

1. Kaplanski G., Marin V., Fabrigoule M., Boulay V.: Thrombin-activated endothelial cells support monocyte adhesion in vitro following expression of intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1; CD54) and vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1;CD106). *Blood* 92:1259-1267 (1998)
2. National Heart, Lung and Blood Institute of Circulatory and Respiratory Health.: Inflammation and thrombosis. <http://www.nhlbi.nih.gov/> (2003)
3. Adamson J., Longo D. : Hematologic alterations . In Braunwald E. et al (eds) " Harrison's. Principles of internal medicine". McGraw-Hill Med. Publ. Div., N.York, pp 348-360 (2001)
4. Tazbir J.: Sepsis and the role of activated protein C. *Clinical Care Nurse* 24:40-45, (2004)
5. Hopley@anaesthetic.com
6. Pinckard R.: Pathophysiology of the inflammatory Process, Inflammation Lectures-1998, *Internet-Medline* (2003)
7. Morrow J., Roberts L.J.: Lipid derived autocoids. In Hardman J. et al: (eds). "Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics". McGraw-Hill Med. Publ. Div., N.York pp 669-685 (1999)
8. Holger U., Einar E., Lennart L.: Leucocyte and endothelial cell adhesion molecules as targets for therapeutic interventions in inflammatory disease. *Trends Pharmacol. Sci.* 24: 640-646 (2003)
9. Williams M., Bray P.: Genetics of arterial prothrombotic risk states. *Exp. Biol. Med.* 226:409-419 (2001)
10. Marnett L. and Kalgutkar A.: Cyclooxygenase 2 inhibitors. Discovery selectivity and the future. *Trends Pharmacol. Sci.* 20:465-469 (1999)
11. Ahluwalia A., perretti M.: B<sub>1</sub> receptors as new inflammatory target. Could this B the 1? *Trends Pharmacol. Sci.* 20:100-104 (1999)
12. Smith W. and Garavito M. and DeWitt D.: Prostaglandin endoperoxide H synthases (cyclooxygenases-1 and 2. *J.Biol.Chem.* 271:33157-33160 (1996)
13. Guyton A., Hall J.: Textbook of medical physiology. Saunders W. Company. Philadelphia USA, (1996)
14. Loll P., Picot D. and Garavito R.: The structural basis of aspirin activity inferred from crystal structure of inactivated prostaglandin H<sub>2</sub> synthase. *Nature Structural Biology* 2: 637-643 (1995)
15. Mayers P.: Lipids of physiological significance. In: Murray R. et al (eds) "Harper's Biochemistry". Prentice-Hall International Inc., Con., pp 134-145 (1990)

16. Roberts D., Cashel J., Guo N.: Purification of thrombospondin from human platelets. *J. Tissue Culture Methods* 16:217-222 (1994)
17. Vallejo A., Mugge L., Khmink P.: Central role of thrombospondin-1 in the activation and clone expansion of inflammatory T-cells. *J. Immunol.* 164:2942-2954 (2000)
18. Roberts D.: Regulation of tumor growth factor and metastasis by thrombospondin-1. *The Faser Journal* 10:1183-1191 (1996)
19. Chandrasekaram L., He C., Al Bazai H.: Cell contact-dependent activation of  $\alpha 3\beta 1$  integrin modulates endothelial cell responses to thrombospondin-1. *Mol Cell Biol.* 11:2885-2900 (2000)
20. Dawson D., Pearce S., Zhong R.: CD36 mediates in vitro inhibitory effects of thrombospondin-1 on endothelial cells. *J. Cell Biol.* 138:707-717 (1997)
21. Lange-Asschenfeldt B., Weninger W., Velasco P.: Increased and prolonged inflammation and angiogenesis in delayed-type hypersensitivity reactions elicited in skin of thrombospondin-2 deficient mice. *Blood* 99:538-545 (2002)
22. Chen D., Asahara T., Krasinski K.: Antibody blockade of thrombospondin accelerates reendothelialization and reduces neointima formation in balloon injected rat carotid artery. *Circulation* 100:849-854 (1999)
23. Goldblum S., Young B., Wang P.: Thrombospondin-1 induces tyrosine kinase phosphorylation of adherens function and regulates an endothelial paracellular pathway. *Cell Biology* 10:1537-1551 (1999)
24. Farnades N., Jancar S., Crespo M.S.: Blood and endothelium in immune complex-mediated tissue injury. *Trends Pharmacol. Sci.* 25:512-517 (2004)
25. Shah P.: Plaque disruption and coronary thrombosis. *Clin. Cardiology* 20(Suppl.II) 38-44 (1997)
26. Toschi V., Gallo R. and Lettino M.: Tissue factor modulates the thrombogenicity of human atherosclerotic plaques. *Circulation* 95:594-599 (1997)
27. Godfraind Th. Et al (Eds): The IUPHAR Compendium of receptor characterisation and classification, IUPHAR, London pp. 209-216 (1998)
28. Hourani S and Hall D.: Receptors for ADP on human blood platelets. *Trends Pharmacol. Sci.* 1994;15:103-107 (1994)
29. Weiss E., Bray P. and Tayback M.: A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. *N.Engl. J. Med* 334:1090-1094 (1996)
30. Libby P.: Molecular basis of the acute coronary syndromes. *Circulation* 91:2844-2850, (1995)

31. Retzinger G., DeAnglis A., Einhans C.: Fibrin(ogen) and inflammation. In: Wellcome to the laboratory of G. Retzinger MD, PhD. *Inernet-medline* (2000)
32. Cocks T., Moffatt J.: Protease-activated receptors. Sentries for inflammation?. leukocytes. *Trends Pharmacol.Sci.* 21:103-108 (2000)
33. Vergnolle N., Wallace J., Bunnett N., Hollenberg M.: Protease-activated receptors in inflammation, neuronal signaling and pain. *Trends Pharmacol.Sci.* 22:146-152 (2001)
34. Murray R., Granner D., Mayes P., Rodwell V.: Harper's Biochemistry. Prentice-Hall Intern. Inc., London (1990)
35. Huntington J., Beglin T.: Targeting thrombin-rational drug design from natural mechanisms. *Trends Pharmacol. Sci.* 24: 589-596 (2003)
36. Fiorucci St., Distruti E.: Role of PAR2 in pain and inflammation. *Trends Pharmacol.Sci.* 23:153-155 (2003)
37. Cirino G., Napoli C., Bucci M., Cicale C.: Inflammation-coagulation network. Are serine protease receptors the knot?. *Trends Pharmacol. Sci.* 21: 170-173 (2000)
38. Smith A.: Pass the protease: new ineractions between GPCRs. *Trends Pharmacol. Sci.* 21: 291 (2000)
39. Torra IP, Genois Ph.and, Staels B.: Peroxisome proliferator – activated receptor alpha in metabolic disease, inflammation, atherosclerosis and aging. *Curr. Opin. Lipidol* 10: 151-159 (1999)
40. Gervois P, Torra I., Fruchart J., Staels B.: Regulation of lipid and lipoprotein metabolism by PPAR activators. *Clin. Chem. Lab. Med.* 38: 3-11 (2000)
41. Κόκκας Β., Κ.Α.Παπαδόπουλος και Π.Κ.Παπαδόπουλος: PPAR – υποδοχείς και αντιαθηρωσκληρωτικοί μηχανισμοί. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.* 18;11-17 (2000)
42. Spiegelman B.: PPAR-gamma; adipogenic regulator and thiazolidinedione receptor. *Diabetes* 47:507-514 (1998)
43. Gotto A., Pownall H.: Manual of Lipid Disorders. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia (2003)
44. Winegar D., Su J., Kliewer St.: Role of peroxisome proliferator-activated receptors in atherosclerosis. *Current opinion Cardio. Pulm. Renal Investig. Drugs* 2:233-243 (2000)
45. Ye P, Hu X., Zhao Y.: PPARs activators in human endothelial cells increases plasminogen activator inhibitor type-1 expression. In: Abstract Book of the first Intern. Symposium on PPARs. Fondazione G. Lorenzini-Milan, p 39 (2001)
46. Barter Ph.: Anti-inflammatory properties of high density lipoproteins.

- In: Abstract Book of the first Intern. Symposium on PPARs. Fondazione G. Lorenzini-Milan, p 13 (2001)
47. Grip O., Lindgren S., Janciauskiene S.: Atorvastatin induce PPAR gamma and attenuate inflammatory response in human monocytes. In: Abstract Book of the first Intern. Symposium on PPARs. Fondazione G. Lorenzini-Milan, p 33 (2001)
  48. Six I., Jaboureck O., Bouly M.: PPAR-alpha activator (fenofibrate restores endothelial function and decreases cyclooxygenase-1 media expression in spontaneously hypertensives. In: Abstract Book of the first Intern. Symposium on PPARs. Fondazione G. Lorenzini-Milan, p 40 (2001)
  49. Majerus Ph., Tollefsen D.: Anticoagulant, thrombolytic and antiplatelet drugs. In: Hardman J. and Limbird L. (eds) "Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics". McGraw -Hill, New York 1519-1538, (2001)
  50. Γεροτζιαφάς Γ.: Τα νέα αντιθρομβωτικά Φάρμακα. Εις: Ελληνική Αιματολογική Εταιρεία. Τμήμα Μακεδονίας- Θράκης.(Εκδ.). Επίκαιρα Αιματολογικά Θέματα. 1<sup>ο</sup> Αιματολογικό Συνέδριο. Θεσσαλονίκη, σελ. 58-51, (2005)
  51. Lee A., Vlasuk G.: Recombinant nematode anticoagulant protein c2 and other inhibitors targeting blood coagulation factor VII/tissue factor. *J. Intern. Med.* 254:313-332 (2003).
  52. Κόκκας Β., Παπαδόπουλος Κ.Λ.: Αντιαιμοπεταλιακοί παράγοντες και κλινική πράξη. *Αρτηριακή Υπέρταση* 7:19-30 (1998)

## Σχέσεις φλεγμονωδών και αθηρωματικών μηχανισμών – Ο ρόλος των υποδοχέων PPARs

Β.Α. Κόκκας, Γ. Τσίντα και Κ.Λ. Παπαδόπουλος  
Εργαστήριο Φαρμακολογίας και Β' Καρδιολογική Κλινική  
Ιατρική Σχολή Α.Π.Θ.

### περίληψη

Η αθηρωματώδης διαδικασία έχει σχεδόν όλα τα χαρακτηριστικά μιας κλασικής φλεγμονώδους απόκρισης με όλες τις ανοσιακές αποκρίσεις που τη συνοδεύουν. Στις αθηρωματικές αλλοιώσεις απαντούν πολλά δυνητικά αντιγόνα μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται μικροβιακά και ιικά τοιαύτα, καθώς και ενδογενείς πρωτεΐνες. Κυρίαρχη θέση ανάμεσα σε αυτά έχει η οξειδωθείσα LDL μαζί με πολλά επιτόπιά της. Οι πυρηνικοί υποδοχείς PPARs τροποποιούν τις κυριότερες μεταβολικές διαταραχές που προδιαθέτουν στην εμφάνιση και εξέλιξη της αθηρωμάτωσης, όπως η δυσλιπιδαιμία και η αντίσταση στην ινσουλίνη που συνδυάζεται με την παχυσαρκία και τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου II. Ως εκ τούτου, οι υποδοχείς αυτοί παίζουν βασικό ρόλο παρεμβαλλόμενοι στους μηχανισμούς που έχουν σχέση με τους παράγοντες αυτούς. Αντιλιπιδαιμικά φάρμακα, όπως οι φιβράτες, και φάρμακα που δρουν ενάντια στην αντίσταση στην ινσουλίνη, όπως οι γλιταζόνες, είναι γνωστό ότι ασκούν τις ενέργειες αυτές διεγείροντας τους PPARα και PPARγ αντίστοιχα. Σύμφωνα με νεότερα δεδομένα, οι υποδοχείς PPARs ελέγχουν κυτταρικές λειτουργίες μέσα από τη ρύθμιση της έκφρασης γονιδίων σε διάφορα κύτταρα που εμπλέκονται στην αθηρωμάτωση, όπως είναι τα μονοκύτταρα, τα μακροφάγα και τα αφρώδη κύτταρα. Ως εκ τούτου, η φαρμακολογική τροποποίηση της έκφρασης των γονιδίων αυτών στα παραπάνω κύτταρα αποτελεί μια πολύ ενδιαφέρουσα στρατηγική η οποία θα αποσκοπεί τόσο στην προστασία όσο και στη θεραπεία των διαφόρων φλεγμονωδών παθήσεων, συμπεριλαμβανομένης και της αθηρωμάτωσης.

### εισαγωγή

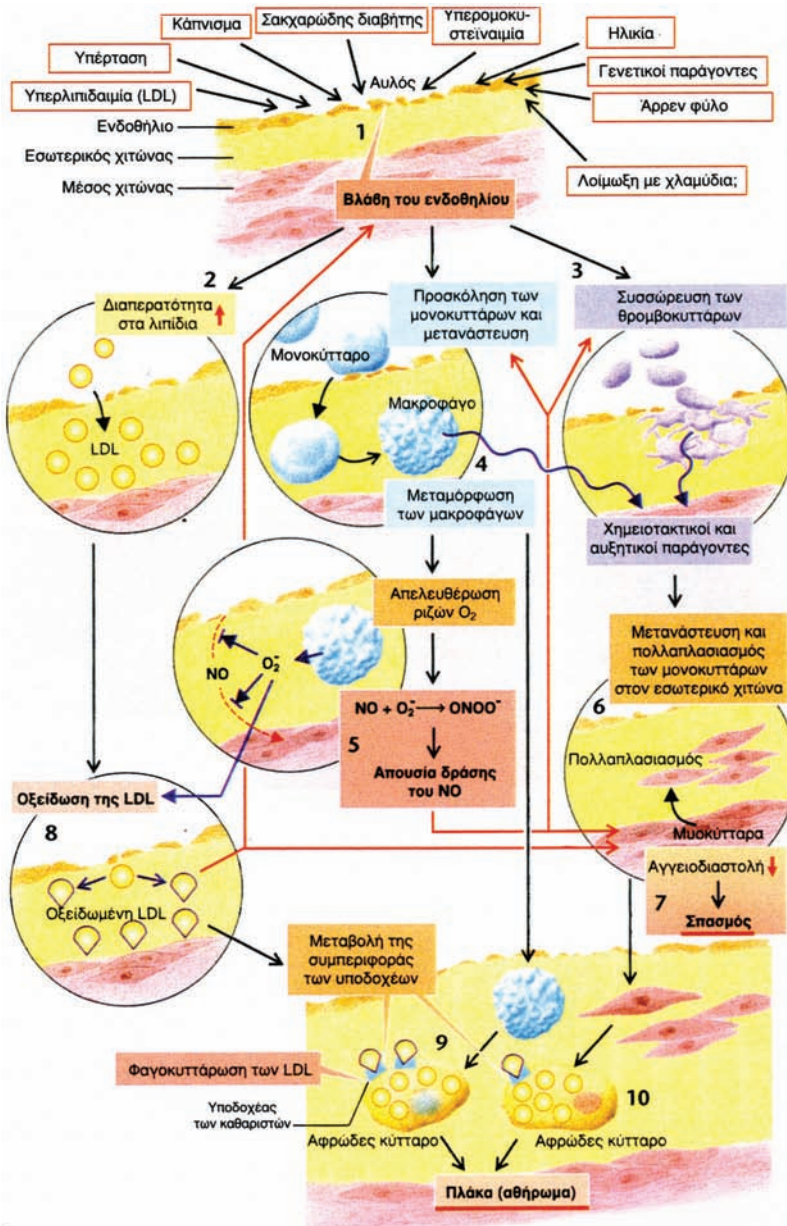
Η αθηρωμάτωση είναι μια πολυκυτταρική και πολύπλοκη διαδικασία κατά την οποία λιπίδια και πρωτεΐνες εξωκυττάριου στρώματος συσσωρεύονται στον έσω χιτώνα των αρτηριών με σύγχρονη ενεργοποίηση των μακροφάγων, των T-λεμφοκυττάρων, των λείων μυϊκών ινών και των ενδοθηλιακών

κυττάρων. Η έκκριση μεταλλοπρωτεϊνών στρώματος και η αυξημένη έκφραση προθρομβωτικών παραγόντων οδηγούν τελικά στη ρήξη της αθηρωματώδους πλάκας και στο σχηματισμό θρόμβων με όλες τις γνωστές συνέπειες (1-6).

Σήμερα είναι πλέον παραδεκτό ότι η αθηρωματώδης διαδικασία, ευθύς ως εγκατασταθεί, αποκτά όλα τα χαρακτηριστικά μιας κλασικής φλεγμονώδους αντίδρασης με τις συνεπακόλουθες ανοσιακές αποκρίσεις και ότι οι βλάβες αυτές συνιστούν μία χρόνια φλεγμονώδη πάθηση. Η ενεργοποίηση των κυττάρων στις αθηρωματώδεις βλάβες, περιλαμβανομένων και των μακροφάγων, οδηγεί στην απελευθέρωση φλεγμονογόνων μορίων τα οποία με τη σειρά τους μεγιστοποιούν την αθηρωματώδη βλάβη. Αυτό γίνεται γιατί τα μόρια αυτά ενεργοποιούν τα ενδοθηλιακά κύτταρα, επιστρατεύουν τα μονοκύτταρα και τα λεμφοκύτταρα, διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος και προάγουν τη σύνθεση οξειδωτικών ριζών (1-6).

Στην αθηρωματική βλάβη απαντούν πολλά δυνητικά αντιγόνα μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται μικροβιακά και ιικά αντιγόνα, ενδογενείς πρωτεΐνες όπως οι HSPs ( Heat Shock Proteins: Πρωτεΐνες Θερμικής Καταπληξίας) και τροποποιημένες πρωτεΐνες του αρτηριακού τοιχώματος που προέρχονται από μη ενζυματική γλυκοζυλίωση ή από τις δράσεις πρωτεασών και άλλων ενζύμων. Κυρίαρχο ρόλο ανάμεσα στα αντιγόνα αυτά έχει η οξειδωμένη λιποπρωτεΐνη LDL (oxLDL) μαζί με τα πολλά νεοεπιτόπια που δημιουργούνται ως αποτέλεσμα της οξειδωσης της απολιποπρωτεΐνης Β και από τμήματα του μορίου της ίδιας της LDL. Στις αθηρωματικές πλάκες έχει επίσης ευρεθεί η παρουσία του χλαμυδίου της πνευμονίας (CP: Chlamydia Pneumoniae). Πιστεύεται ότι η παρουσία του CP επιταχύνει την εξέλιξη των βλαβών αυτών. Παράλληλα, φλεγμονώδεις δείκτες όπως η C- αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP: C Reactive Protein) και η ιντερλευκίνη-6 (IL-6) αποτελούν ισχυρούς και ανεξάρτητους παράγοντες κινδύνου. Η φλεγμονώδης έκκριση αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την απότομη μετάβαση από τη σταθερή στην ασταθή αθηρωματική πλάκα και αυτό επιβεβαιώνεται από την απότομη αύξηση των επιπέδων της CRP στις περιπτώσεις αυτές (2-6).

Η αθηρωματική διαδικασία αρχίζει με τη στράτευση και την κατακράτηση των μονοκυττάρων και των λεμφοκυττάρων στο αρτηριακό τοίχωμα. Το γεγονός αυτό πυροδοτείται από τα αυξημένα επίπεδα της LDL με αποτέλεσμα τη συσσώρευση και κατακράτηση των oxLDL στον υπενδοθηλιακό χώρο. Η εξέλιξη αυτή διεγείρει τη φλεγμονώδη αντίδραση των αγγειακών κυττάρων. Τα αφρώδη κύτταρα που προέρχονται από τα φορτωμένα με λιπίδια μακροφάγα και τα οποία έχουν σχηματισθεί στα αρχικά στάδια της αθηρωματώδους διαδικασίας ξεκινούν και προάγουν τη διαμόρφωση των



**Εικόνα 7.1:** Σχηματική παράσταση των φάσεων εξέλιξης της αθηρωματώδους πλάκας. *Silbernagl St., Lang F.: Εικονογραφημένο Εγχειρίδιο Παθολογίας. Ιατρικές & Επιστημονικές Εκδόσεις Σιώκη (2002)*

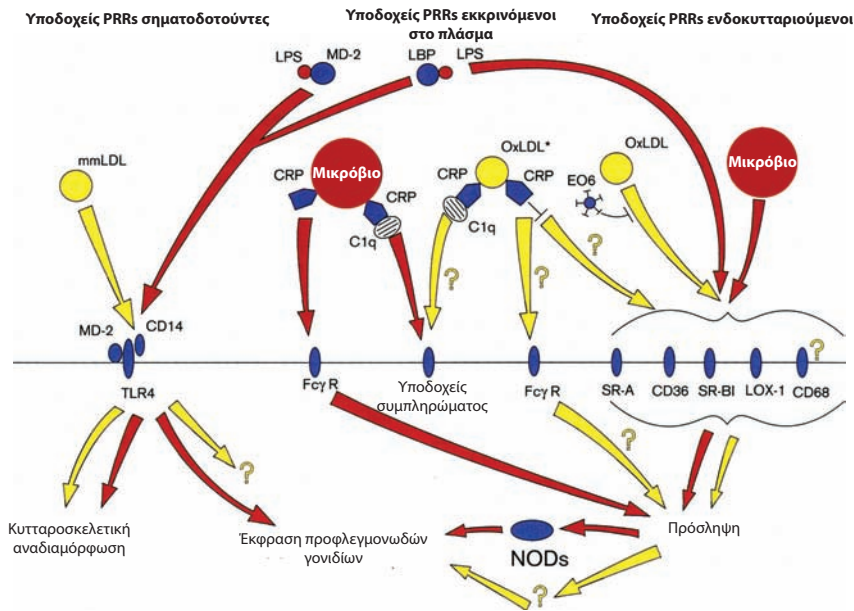
αθηρωματωδών αλλοιώσεων. Οι ενδιάμεσες και προχωρημένες βλάβες κατά την αθηρωμάτωση συνίστανται στην παρουσία των αφρωδών κυττάρων και στον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των λείων μυϊκών ινών, γεγονότα που συνιστούν μια τοπική φλεγμονώδη αντίδραση με τις συνεπακόλουθες ανοσιακές αποκρίσεις. Υπάρχουν πλέον ισχυρές ενδείξεις ότι και άλλα ανοσιακά κύτταρα όπως τα Τ-λεμφοκύτταρα και τα δενδριτικά, και σε μικρότερη έκταση τα Β-λεμφοκύτταρα, ευρίσκονται ενεργοποιημένα στις αθηρωματικές βλάβες (1-6).

### **ΟΞΕΙΔΩΜΕΝΕΣ ΛΙΠΟΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΚΑΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΟΥΣ ΟΠΟΙΟΥΣ ΑΝΑΓΝΩΡΙΖΟΥΝ**

Η αθηρωματώδης διαδικασία αρχίζει, όπως ήδη αναφέρθηκε, με την επιστράτευση και την κατακράτηση των μονοκυττάρων και των λεμφοκυττάρων στο αρτηριακό τοίχωμα. Το γεγονός αυτό προάγεται από τα υψηλότερα επίπεδα της LDL-χοληστερόλης τα οποία οδηγούν στην κατακράτηση και συσσώρευση των ox-LDL στην υπενδοθηλιακή στιβάδα, γεγονός που με τη σειρά του οδηγεί σε προφλεγμονώδη αντίδραση από τα αγγειακά κύτταρα. Οι ox-LDL και τα επιτόπιά τους αποτελούν κυρίαρχα αντιγονικά στοιχεία και σχηματίζονται από την οξειδωση της αροΒ και των λιπιδικών στοιχείων της LDL. Τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια των ox-LDL σηματοδοτούν βιοχημικές οδούς οι οποίες προάγουν την έκφραση γονιδίων της φλεγμονής με μηχανισμούς διαφορετικούς από εκείνους που προάγουν οι κλασικοί φλεγμονογόνοι αγωνιστές TNF-α (Tumor Necrosis Factor-α) και οι λιποπολυσακχαρίδες (LPS: Lipopolysaccharide). Επίσης, η υπεροξειδωση των λιπιδίων αλλοιώνει την ομοιότητα των κυτταρικών μεμβρανών προκαλώντας μεμβρανικά κενोटόπια. Οι ανοσιακές αποκρίσεις που ακολουθούν τη φλεγμονογόνο δράση των ox-LDL ασκούν πολύπλοκες παρεμβάσεις στην εξέλιξη της αθηρωμάτωσης, καθώς άλλες προάγουν και άλλες αναστέλλουν την πρόοδο των γνωστών αλλοιώσεων. Οι οξειδωτικές εξεργασίες στα μικροαγγεία μπορεί να παίξουν ρόλο στην έναρξη και ενίσχυση της χρόνιας φλεγμονώδους διαδικασίας. Παράλληλα, ο οργανισμός αναπτύσσει αντιφλεγμονώδεις και κυτταροπροστατευτικούς μηχανισμούς (2,3).

Οι διαλυτοί υποδοχείς CD14 μαζί με την LBP (Lipopolysaccharide-Binding Protein) είναι αυτοί που μεθοδεύουν την ανταλλαγή των φωσφολιπιδίων μεταξύ των λιποπρωτεϊνών του πλάσματος και των κυτταρικών μεμβρανών. Η σύνδεση των mmLDL (minimally modified LDL), χαρακτηριστικός εκπρόσωπος των οποίων είναι οι ox-LDL, με τους υποδοχείς CD14 των μακροφάγων προκαλεί εκτεταμένες μεταβολές στη δομή των μακροφάγων που συνίστανται σε μεγάλη αύξηση της πολυμερισμένης ακτίνης στο κυτταρόπλα-





**Εικόνα 7.2: Το σήμα που εκπορεύεται από τα παθογόνα μικρόβια και την τροποποιημένη LDL μέσω των φυσικών ανοσιακών υποδοχών της κατηγορίας PRR (Pattern Recognition Receptors) στα μακροφάγα.**

**Μικρόβια-σηματοδότηση PRR-υποδοχών κυτταρικής μεμβράνης.** Η σύνδεση των LPS (Lipopolysaccharides: λιποπολυσακχαριδών) με τα CD14 ή τα MD-2 πυροδοτεί το βιοχημικό σήμα από τους TLR4 (Toll like receptor 4: Δίκληνη Toll υποδοχέας 4) που καταλήγει στην έκφραση προφλεγμονωδών γονιδίων και στην κυτταροσκελετική αναδιαμόρφωση. **Οξειδωμένες LDL-σηματοδότηση PRR-υποδοχών κυτταρικής μεμβράνης.** Η σύνδεση των mmLDL ή των οξειδωμένων μορίων με το CD14 πυροδοτεί το σήμα από τους υποδοχείς TLR4 που καταλήγει στην κυτταροσκελετική αναδιαμόρφωση.

**Μικρόβια-εκκρινόμενοι PRR-υποδοχείς.** Το σήμα των LPS μέσω των υποδοχών TLR4 χρειάζεται την επικουρία των διαλυτών PRRs (Pattern Recognition Receptors: Υποδοχείς αναγνώρισης δείγματος), της LBP (Lipopolysaccharide Binding Protein: Πρωτεΐνη συνδεόμενη με λιποπολυσακχαρίδες) ή της MD-2, δηλαδή της πρωτεΐνης της προσαρμοζόμενης στους υποδοχείς TLR4, καθώς επίσης και του διαλυτού CD14. Η σύνδεση της CRP (C Reactive Protein: C αντιδρώσα πρωτεΐνη) με τα μικρόβια μεθοδεύει τη φαγοκυττάρωση μέσω των υποδοχών FcγRs (Fcγ Receptors: Υποδοχείς Fcγ). Επίσης διεγείρει την κλασική οδό του συμπληρώματος μέσω της C1q. Στη συνέχεια, αυτή μπορεί να μεθοδεύσει την κάθαρση συνδεόμενη με τους υποδοχείς του συμπληρώματος. **Οξειδωμένες LDL-εκκρινόμενοι PRR-υποδοχείς.** Το φυσικά ευρισκόμενο αντίσωμα EO6 αναστέλλει την πρόσληψη της oxLDL (οξειδωμένη LDL) από τα μακροφάγα. Οι βιολογικές συνέπειες της σύνδεσης της CRP με τις oxLDLs (ή τις τροποποιημένες λόγω συσσώρευσης ή άλλων φυσικών αλλαγών) δεν είναι ακόμη γνωστές, αλλά θα μπορούσαν να προάγουν ή να αναστέλλουν την πρόσληψη των oxLDLs από τους υποδοχείς. **Μικρόβια-Ενδοκυτταριούμενοι PRR-υποδοχείς.** Η μέσω των υποδοχών αποκομιδής πρόσληψη των μικροβίων ή των συστατικών τους όπως οι LPS, οδηγεί σε προφλεγμονώδεις απαντήσεις. Σύμφωνα με πρόσφατα δεδομένα οι απαντήσεις αυτές μεταδίδονται μέσω των ενδοκυττάρων υποδοχών της οικογένειας NOD. **Οξειδωμένες LDL-ενδοκυτταριούμενοι PRR-υποδοχείς.** Η πρόσληψη των oxLDLs από τους υποδοχείς αποκομιδής καταλήγει στο σχηματισμό αφρωδών κυττάρων καθώς επίσης και στην επαγωγή των φλεγμονογόνων κυτταροκινών. Δεν είναι γνωστό το πώς οι oxLDLs και τα συστατικά τους μεταδίδουν σήματα.

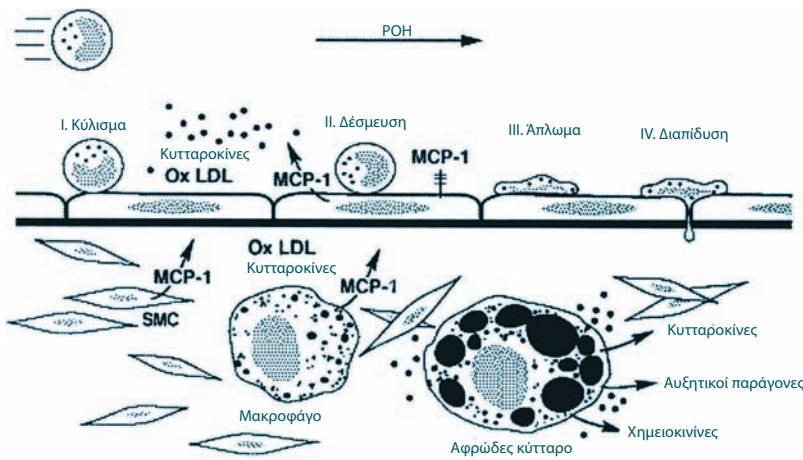
Οι βιοχημικές οδοί που σχετίζονται με την τροποποιημένη LDL χρωματίζονται κίτρινες, εκείνες που σχετίζονται με τα παθογόνα μικρόβια χρωματίζονται κόκκινες και οι φυσικοί ανοσιακοί υποδοχείς με μπλε.

σμα και έντονο άπλωμα των μακροφάγων που συνοδεύεται από αναστολή της πρόσληψης των αποπτωτικών κυττάρων. Παράλληλα, γίνεται μια αθρόα πρόσληψη της ox-LDL από τους υποδοχείς αποκομιδής CD14 των μακροφάγων λόγω αυξημένης έκφρασης των τελευταίων. Και οι δύο διαδικασίες θεωρούνται δυνητικά φλεγμονογόνες και αθηρωματογόνες (2).

Είναι γνωστό ότι οι υποδοχείς CD14, που είναι αγκυροβολημένοι στην κυτταρική μεμβράνη μέσω μιας γλυκοζυλοφωσφατιδυλινοσιτόλης, δεν έχουν διαμεμβρανικό τμήμα και δεν μπορούν να μεταδώσουν το σήμα ενδοκυττάρια. Καθώς ενώνονται με τους μικροβιακούς LPS δημιουργούν σύμπλοκο με τη LBP και στη συνέχεια ζευγαρώνουν με τους υποδοχείς TLRs (Toll-like Receptors) οι οποίοι διαθέτουν ενδοκυττάρια τμήμα με το μηχανισμό αυτό επιτυγχάνεται η ενδοκυττάρια διέγερση η οποία θα οδηγήσει στη διέγερση των γονιδίων που κωδικοποιούν τις κυτταροκίνες. Το σημείο σύνδεσης των mmLDL με τους υποδοχείς CD14 φαίνεται να είναι διαφορετικό από εκείνο των LPS, ενώ έχει διαπιστωθεί η αυξημένη παρουσία του υποδοχέα TLR4 στα μακροφάγα του ανθρώπου που ευρίσκονται σε αθηρωματώδεις αλλοιώσεις. Καθημερινά αυξάνεται η πεποίθηση ότι οι ox-LDL συνδέονται και μέσω των υποδοχέων CD14 και TLR με βιοχημικές οδούς που σχετίζονται με αθηρωματώδεις καταστάσεις (2).

Ένας άλλος υποδοχέας που φαίνεται να σχετίζεται με την πρόσληψη των ox-LDL είναι ο ανοσορρυθμιστικός υποδοχέας G2A, ένας υποδοχέας που βρέθηκε για πρώτη φορά στα T-λεμφοκύτταρα. Πρόκειται για έναν υποδοχέα που συνδέεται με G-πρωτεΐνη και αναγνωρίζει τη φωσφορυλοχολίνη (PC: Phosphorylcholine) στο μόριο της ox-LDL. Δεν είναι γνωστό προς το παρόν αν ο υποδοχέας αυτός έχει κάποιο ρόλο στην εξέλιξη της αθηρωμάτωσης (2).

Οι υποδοχείς αποκομιδής (Scavenger Receptors) είναι μεμβρανικοί υποδοχείς που συνδέονται με διάφορα παθολογικά στοιχεία τα οποία εισάγουν στο εσωτερικό των μακροφάγων. Πολλοί από τους υποδοχείς αυτούς σχετίζονται με την ανοσιακή απόκριση και την ιστική ομοιόσταση γιατί συνδέονται με μικρόβια, μικροβιακά υπολείμματα, αποπτωτικά κύτταρα, τροποποιημένες πρωτεΐνες και λιποπρωτεΐνες. Οι υποδοχείς αυτοί δεν συνδέονται με τη φυσική LDL αλλά με τις τροποποιημένες μορφές της, ιδιαίτερα με τις mmLDL, όπως είναι η oxLDL, όπου οι υποδοχείς αυτοί συνδέονται με την PC (Phosphocholine), δηλαδή το τμήμα του μορίου της oxLDL το οποίο αντιπροσωπεύει και το σημείο αναγνώρισης PAMP (Pathogen Associated Molecular Pattern: Μοριακό πρότυπο σχετιζόμενο προς παθογόνο) από τους υποδοχείς αποκομιδής. Υπάρχει μοριακή μιμητικότητα μεταξύ του PC τμήματος των πολυσακχαριδίων του κυτταρικού τοιχώματος των μικροβίων και του PC τμήματος των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων που απαντούν στο

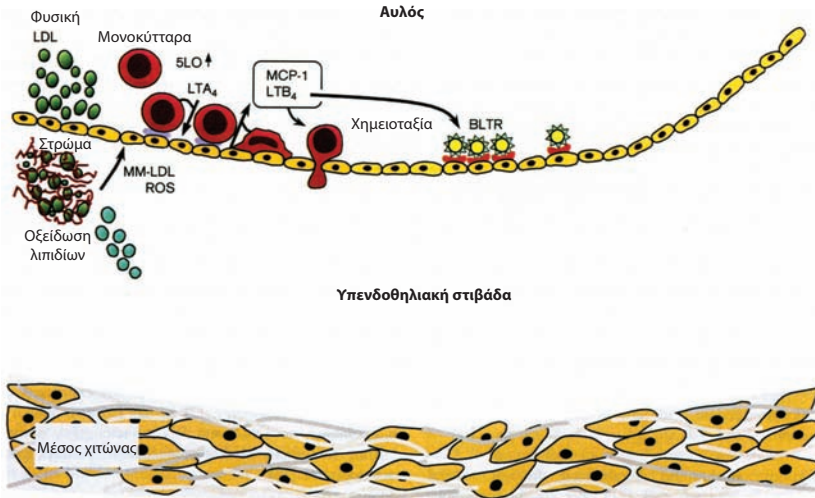


**Εικόνα 7.3.: Αλληλεπιδράσεις μονοκυττάρων και ενδοθηλιακών κυττάρων κατά την αρχική φάση της αθηρωμάτωσης.** Αναπαράσταση της μεταναστευτικής πορείας των μονοκυττάρων από την αιματική ροή προς την υπενδοθηλιακή στιβάδα και των λείων μυϊκών ινών από το μέσο χιτώνα προς την ίδια κατεύθυνση. Μετατροπή των κυττάρων αυτών σε μακροφάγα και τελικά σε αφρώδη κύτταρα. OxLDL (oxidized LDL: οξειδωμένες LDL), SMC (Smooth Muscle cells: Λείες μυϊκές ίνες), MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein: Χημειοαττακτική πρωτεΐνη των μονοκυττάρων-1). *Internet - Medline (2003)*

μόριο της oxLDL και στα αποπτωτικά κύτταρα. Η κατάλληλη έκθεση του PC σε αυτές τις παθολογικές δομές παριστά στην ουσία ένα σήμα κινδύνου το οποίο καθίσταται στην ουσία ένα PAMP που με τη σειρά του αναγνωρίζεται από τα φυσικά αντισώματα και τους υποδοχείς αποκομιδής. Είναι αμφισβητήσιμο αν τα φυσιολογικά κύτταρα και οι φυσιολογικές LDL διαθέτουν επίσης τμήμα PC το οποίο είναι κρυμμένο και δεν προβάλλεται. Επίσης, το αν το PC των μικροβίων είναι και το κλειδί για τη σύνδεση των τελευταίων με τους υποδοχείς αποκομιδής και στη συνέχεια πρόσληψή τους είναι κάτι που πρέπει να διευκρινισθεί (1,2).

Μεταξύ των πρωτεϊνών του πλάσματος που αναγνωρίζουν το PC στις oxLDL και στα αποπτωτικά κύτταρα περιλαμβάνεται και η CRP, η οποία όμως δεν αναγνωρίζει ούτε την LDL στους διάφορους φυσιολογικούς μετασχηματισμούς της ούτε και τα φυσιολογικά κύτταρα. Η CRP, όμως, αναγνωρίζει την LDL όταν αυτή προσκολλάται στο εξωκυττάριο στρώμα του αγγειακού τοιχώματος. Υπάρχουν αναφορές σύμφωνα με τις οποίες η CRP συντίθεται και από τα κύτταρα που απαντούν στις αθηρωματικές αλλοιώσεις και πιστεύεται ότι έχει σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση της αθηρωμάτωσης (2).

Η δομή της επιφάνειας των oxLDL ομοιάζει με εκείνη των αποπτωτικών κυττάρων τα οποία τη συναγωνίζονται στις θέσεις σύνδεσης των υποδοχέ-



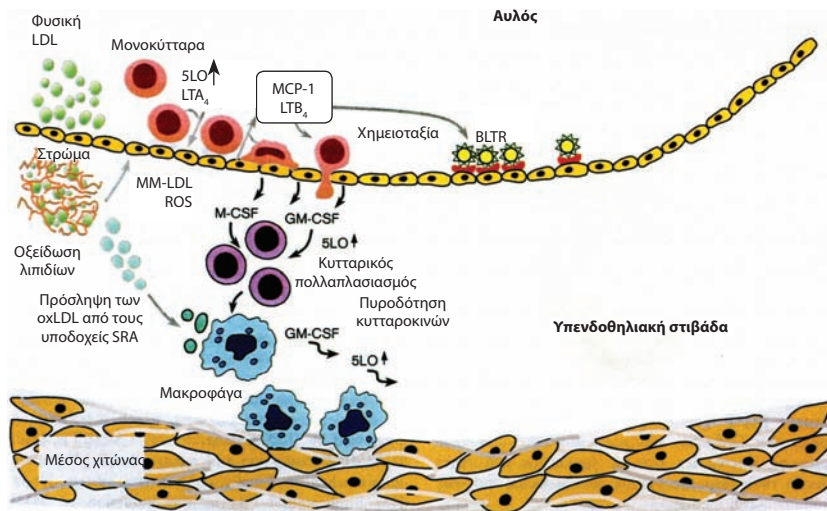
**Εικόνα 7.4: Φλεγμονώδη στάδια κατά την έναρξη και την εξέλιξη της αθηρωματικής βλάβης.**

Η LDL αντιδρά με τις ROS (Reactive Oxygen Species: Ελεύθερες Ρίζες Οξυγόνου) που απελευθερώνουν τα διεγερμένα μονοκύτταρα και μετατρέπεται στην οξειδωμένη μορφή. Με την ελάχιστη τροποποιημένη νέα μορφή της (MMLDL: Minimally Modified LDL), η οξειδωμένη LDL προάγει την έκφραση φλεγμονογόνων παραγόντων από το αγγειακό τοίχωμα που πυροδοτούν με τη σειρά τους τη φλεγμονώδη αντίδραση. Ιδιαίτερα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα παράγουν μόρια προσκόλλησης, χημειοτακτικές πρωτεΐνες, όπως η MCP (Monocyte Chemotactic Protein), και αυξητικούς παράγοντες όπως ο M-CSF (Macrophage Colony Stimulating Factor) και ο GM-CSF (Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor). Ο βιοχημικός δρόμος της 5LO (5-Lipoxygenase) συμβάλλει προάγοντας την έκφραση μορίων προσκόλλησης που είναι απαραίτητα για την αρχική στράτευση των μονοκυττάρων. Η λευκοτριένη LTA<sub>4</sub> η οποία αποτελεί προϊόν μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος από τη 5LO δίνει με υδρόλυση τη λευκοτριένη LTB<sub>4</sub>. Η χημειοταξία και μετανάστευση των μονοκυττάρων διεγείρεται τόσο από την MCP όσο και από τη LTB<sub>4</sub>. Η LTB<sub>4</sub> ασκεί τις βιολογικές της δράσεις διεγείροντας τους υποδοχείς BLTR (B Leukotriene Receptor). Στον υπενδοθηλιακό χώρο εισέρχονται τα μονοκύτταρα και τα λεμφοκύτταρα, όχι όμως και τα κοκκιοκύτταρα.

*Cur. Opin. Lipidol.* 14 (2003)

ων αποκομιδής. Στη συνέχεια, οι υποδοχείς αυτοί εισάγουν την oxLDL στα μακροφάγα. Η συσσώρευση των χοληστερικών εστέρων οδηγεί τα κύτταρα αυτά σε εκφύλιση μετατρέποντάς τα σε αφρώδη κύτταρα. Από τους υποδοχείς αυτούς, οι SR-A (Scavenger receptor-A) και οι CD36 προσλαμβάνουν το 90% των oxLDL στα μακροφάγα και εμπλέκονται στην αθηρωμάτωση (2).

Τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια φαίνεται ότι έχουν σπουδαίο ρόλο όχι μόνο στην έναρξη και την εξέλιξη της αθηρωμάτωσης αλλά και σε όλες τις φλεγμονές όπου αναφέρεται αυξημένη σύνθεση οξειδωτικών ριζών. Πιστεύεται ότι οι ουσίες αυτές ασκούν φλεγμονογόνες και αντιφλεγμονώδεις δράσεις ανάλογα με την περίπτωση.

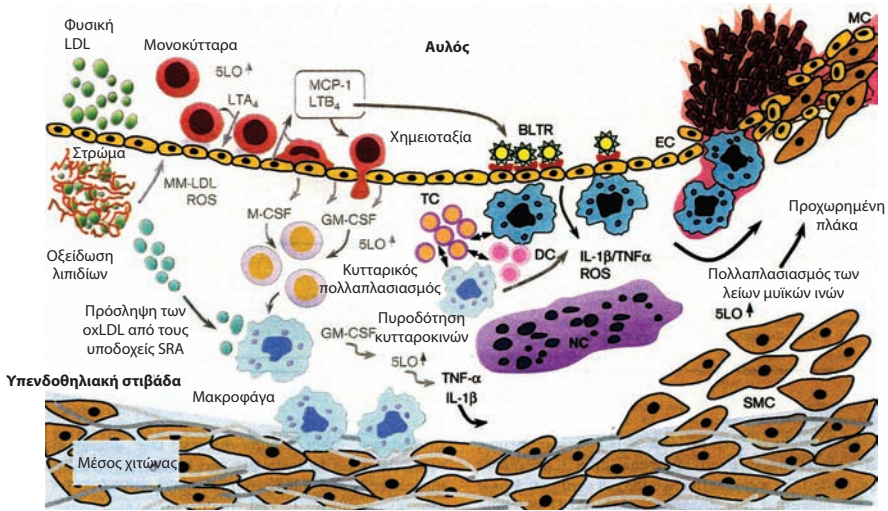


**Εικόνα 7.5: Συσώρευση των μακροφάγων και σχηματισμός αφρωδών κυττάρων στην αθηρωματική βλάβη.** Καθώς τα μονοκύτταρα περνούν στην υπενδοθηλιακή στιβάδα, διεγείρονται από τους M-CSF (Macrophage Colony Stimulating Factor) και GM-CSF (Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor) και διαφοροποιούνται προς μακροφάγα. Οι ίδιοι παράγοντες αυξάνουν τη γονιδιακή έκφραση της FLAP (5 Lipoxygenase Activating Protein) και της 5LO (5-Lipoxygenase) και τη σύνθεση της λευκοτριένης LTB<sub>4</sub> προάγοντας ακόμη περισσότερο τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των μακροφάγων. Τα τελευταία αρχίζουν να προσλαμβάνουν την οξειδωμένη LDL (oxLDL) μέσω των υποδοχών αποκομιδής (SRA: Scavenger Receptor A) και μεταπίπτουν σε αφρώδη κύτταρα. Όπου MMLDL (Minimum Modified LDL), BLTR (B Leukotriene Receptor), MCP (Monocyte Chemotactic Protein), ROS (Reactive Oxygen Species).

*Cur. Opin. Lipidol.* 14 (2003)

Η διέγερση πολλών μεταγραφικών παραγόντων όπως ο EGRP-1 (Early Growth Response Protein-1: Πρωτεΐνη 1 της πρώιμης αυξητικής ανταπόκρισης), ο NFAT (Nuclear Factor of Activated T-cell: Πυρηνικός παράγων ενεργοποιημένων κυττάρων T), ο CREB (cAMP Response Element- Binding Protein: Δεσμευτική πρωτεΐνη του στοιχείου ανταπόκρισης στο cAMP) εξηγεί τη φλεγμονογόνο δράση των λιπιδίων αυτών. Ειδικότερα, ο μεταγραφικός παράγοντας EGRP-1 εμφανίζεται άμεσα και παροδικά ύστερα από εξωκυττάρια ερεθίσματα μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται οι κυτταροκίνες, οι αυξητικοί παράγοντες, η μηχανική διέγερση και οι τραυματικές βλάβες. Πολλά γονίδια που έχουν σχέση με τη φλεγμονή και τη θρόμβωση περιέχουν στην περιοχή του προαγωγέα θέσεις σύνδεσης για τον παράγοντα EGRP-1. Επίσης ο παράγοντας αυτός ανευρίσκεται σε υψηλές συγκεντρώσεις στις αθηρωματικές βλάβες (3).

Αντίθετα, οι αντιφλεγμονώδεις ενέργειες φαίνεται ότι διαμεσολαβούνται



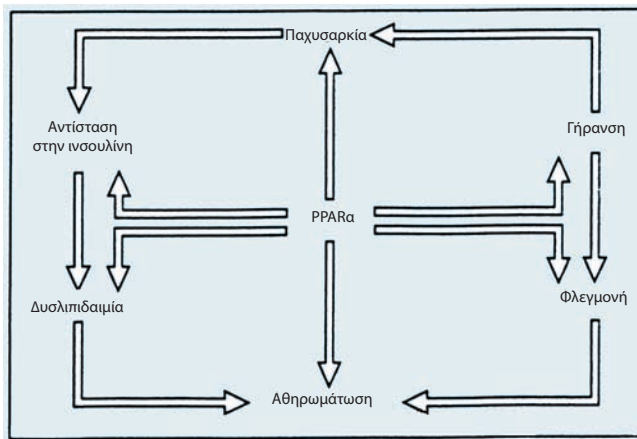
**Εικόνα 7.6: Εξέλιξη προς την προχωρημένη αθηρωματική βλάβη.** Τα αφρώδη κύτταρα συνθέτουν μια ποικιλία ουσιών και στη συνέχεια χάνονται με νεκρωτικούς ή αποπτωτικούς μηχανισμούς συμβάλλοντας με το περιεχόμενό τους στο σχηματισμό ενός συνεχώς αυξανόμενου πυρήνα από συντρίμμια και χοληστερόλη. Παράλληλα συντελείται η μετανάστευση των λείων μυϊκών ινών (SMC: Smooth Muscle Cell) από τον μέσο χιτώνα προς τον έσω. Οι λείες μυϊκές ίνες συνθέτουν κολλαγόνο και σχηματίζουν την ινώδη κάψα που καλύπτει το νεκρωτικό πυρήνα. Η ινώδης κάψα περιέχει επίσης μακροφάγα, λείες μυϊκές ίνες, εξωκυττάριο στρώμα και σιτευτικά κύτταρα (MC: Mast Cell). Τα τελευταία εκφράζουν γονιδιακά την FLAP (5 Lipoxygenase Activating Protein) και την 5LO (5-Lipoxygenase). Η βιοχημική οδός της 5LO (5-Lipoxygenase) συμβάλλει στο σχηματισμό των προχωρημένων αυτών βλαβών, γιατί προάγει τη γονιδιακή έκφραση των φλεγμονογόνων κυτταροκινών ιντερλευκίνη II-1β και TNF-α (Tumor Necrosis Factor- α) που είναι απαραίτητες για τη διέγερση, μεταξύ άλλων, της υπερπλασίας του έσω χιτώνα και τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών ινών. Επίσης η 5LO προάγει τη γονιδιακή έκφραση των MMPs (Matrix Metalloproteinases). Η απελευθέρωση πρωτεολυτικών ενζύμων όπως οι MMPs προάγει τη λέπτυνση και τη ρήξη της ινώδους κάψας. Η ρήξη της ινώδους κάψας πυροδοτεί τους μηχανισμούς σχηματισμού του θρόμβου ο οποίος διακόπτει την κυκλοφορία του αίματος. Όπου BLTR (B Leukotriene Receptor), DC (Dendritic Cell), M-CSF (Macrophage Colony Stimulating Factor), GM-CSF (Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor), MMLDL (Minimum Modified LDL), NC (Necrotic Cover), LT (Leukotriene), oxLDL (Oxidized LDL), ROS (Reactive Oxygen Species), SRA (Scavenger Receptor A), TC (T-Lymphocytes). *Cur. Opin. Lipidol.* 14 (2003)

από την ανασταλτική τους δράση στον μεταγραφικό παράγοντα NF-κΒ και αυτό ειδικότερα στις οξείες μικροβιακές φλεγμονές, όπου οι βιοχημικές οδοί που εξαρτώνται από τον παράγοντα αυτό παίζουν μεγάλο ρόλο (3).

Παράλληλα, η διέγερση από τις ενώσεις αυτές μεταγραφικών παραγόντων, όπως των πυρηνικών υποδοχέων PPARs, εξηγεί τόσο τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές τους όσο και το ρόλο τους στη μετατροπή μιας οξείας σε χρόνια φλεγμονή (3).

## ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ PPARs

Οι υποδοχείς οι ενεργοποιούμενοι από τον πολλαπλασιαστή των υπεροξεισωματίων (PPARs: Peroxisome Proliferator-Activated Receptors) είναι πυρηνικοί υποδοχείς που διεγείρονται από ορισμένες ουσίες, όπως μόρια που προέρχονται από φυσικά λιπαρά οξέα, και ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων εκείνων τα οποία κωδικοποιούν παράγοντες που ελέγχουν την ενεργειακή ομοιόσταση και το μεταβολισμό των λιπιδίων και της γλυκόζης. Επηρεάζουν ευνοϊκά για τον οργανισμό την εξέλιξη μεταβολικών διαταραχών όπως είναι η δισλιπιδαιμία και ο σακχαρώδης διαβήτης αλλά και των επιπλοκών τους όπως η αθηρωματοσκλήρωση και η παχυσαρκία. Παράλληλα, χαρακτηριστική είναι και η αντιφλεγμονώδης δράση τους καθώς παρεμβάλλονται αρνητικά, μέσα από μηχανισμούς που θα αναπτυχθούν στη συνέχεια, σε προφλεγμονώδη βιοχημικά μονοπάτια που πυροδοτούνται από μεταγραφικούς παράγοντες (1,7-10).



**Εικόνα 7.7: Ο ρόλος των υποδοχέων PPARα στις μεταβολικές και αγγειακές διαταραχές που σχετίζονται με την πρόοδο της ηλικίας.**

*Cur. Opin. Lipidol 10 (1999)*

Μέχρι σήμερα έχει διαπιστωθεί η ύπαρξη τριών διαφορετικών γονιδίων που κωδικοποιούν αντίστοιχα τους υποδοχείς PPARα, PPARβ/δ και PPARγ (10-13). Σύμφωνα με νεότερες αναφορές, οι PPARβ/δ χαρακτηρίζονται πλέον ως υποδοχείς PPARβ. Οι PPARα-υποδοχείς εντοπίζονται δομικά στο κυτταρόπλασμα και οι PPARγ-υποδοχείς στον πυρήνα (11-16).

Οι υποδοχείς-PPARα ευρίσκονται σε μεγάλη συγκέντρωση στους ιστούς όπου υπάρχει έντονος καταβολισμός των λιπιδίων, όπως είναι το ήπαρ. Η διέγερση των υποδοχέων PPARα βελτιώνει την ομοιόσταση της γλυκόζης, ελαττώνει το βάρος του σώματος και προάγει την ενεργειακή ισορροπία. Αυτό επιτυγχάνεται γιατί οι υποδοχείς αυτοί διεγείρουν την έκφραση γονιδίων τα οποία κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες αυτές που μεθοδεύουν την πρόσληψη των λιπαρών οξέων από τα ηπατικά κύτταρα, την ενεργοποίησή τους προς εστέρες του ακυλο-συνενζύμου A, τη διάσπασή τους μέσω των οδών της μιτοχονδριακής και υπεροξεισωματιδιακής β-οξειδωσης και του σχηματισμού των κετονικών σωμάτων. Μεταξύ των ενζύμων των οποίων τη γονιδιακή έκφραση ρυθμίζουν οι υποδοχείς αυτοί και τα οποία με τη σειρά τους προάγουν την είσοδο των λιπαρών οξέων στα μιτοχόνδρια, περιλαμβάνονται οι μυϊκού τύπου και ηπατικού τύπου καρνιτινο-παλμιτοϋλοτρανσφεράσες I και II (CPT-I και CPT-II) (1,7).

Οι υποδοχείς-PPARγ ρυθμίζουν την κυτταρική διαφοροποίηση, τη λιπογένεση και τη δράση της ινσουλίνης (16,17,18). Μεταξύ άλλων, οι υποδοχείς αυτοί διεγείρουν την έκφραση γονιδίων τα οποία κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες-μεταφορές όπως η πρωτεΐνη μεταφοράς λιπαρών οξέων μακράς αλύσου, η τρανσλοκάση και οι πρωτεΐνες μεταφοράς της γλυκόζης (1).

Ελάχιστα είναι γνωστά για τη βιολογική δράση που διαμεσολαβείται από τους υποδοχείς-PPARβ/δ και ο κυριότερος λόγος είναι ότι δεν είχε ευρεθεί μέχρι πρότινος βιολογική ή συνθετική ουσία που να συνδέεται εκλεκτικά με αυτούς, ώστε να καταστεί δυνατή η μελέτη τους. Πρόσφατα η χρήση ειδικών προσδετών δίνει ενδιαφέροντα στοιχεία για τη δράση τους στο μεταβολισμό των λιπιδίων, τα οποία θα αναφερθούν στη συνέχεια (4,7).

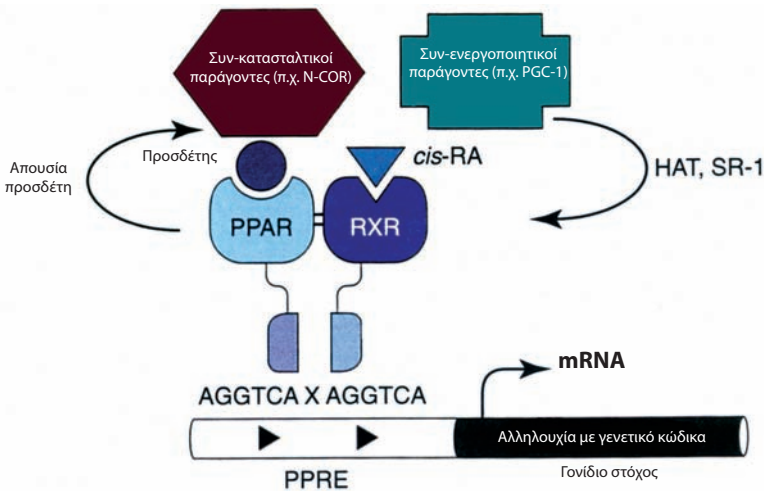
Ανακεφαλαιώνοντας, μπορούμε να καταλήξουμε στο συμπέρασμα ότι οι υποδοχείς PPARs, συμπεριλαμβανομένων των άλφα, γάμα και βήτα/δέλτα, αποτελούν έναν λειτουργικό σύνδεσμο μεταξύ παχυσαρκίας, υπέρτασης και διαβήτη, ρυθμίζοντας το μεταβολισμό λιπών και λιποπρωτεϊνών, την ομοιόσταση της γλυκόζης και την κυτταρική διαφοροποίηση (11-20).

Στο κείμενο που ακολουθεί θα γίνει κατ' αρχήν μία προσπάθεια να παρουσιασθεί σε συντομία ο ρόλος των πυρηνικών υποδοχέων στους μηχανισμούς μεταγραφής του DNA προς mRNA, το οποίο και μεταφέρει τις πληροφορίες προς τα ριβοσωμάτια για τη, μεταξύ άλλων, σύνθεση των πρωτεϊνών εκείνων που έχουν σχέση με τους μηχανισμούς ανάπτυξης της φλεγμονής. Στη συνέχεια θα αναπτυχθούν οι μηχανισμοί με τους οποίους ασκείται ο αρνητικός ρόλος των PPAR-υποδοχέων σε βασικούς μηχανισμούς που έχουν σχέση με την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης. Οι μηχανισμοί αυτοί αφορούν όπως ήδη αναφέρθηκε, το μεταβολισμό των λιπιδίων, το μεταβολισμό της γλυκόζης και την ανάπτυξη της φλεγμονής στο αγγειακό τοίχωμα.



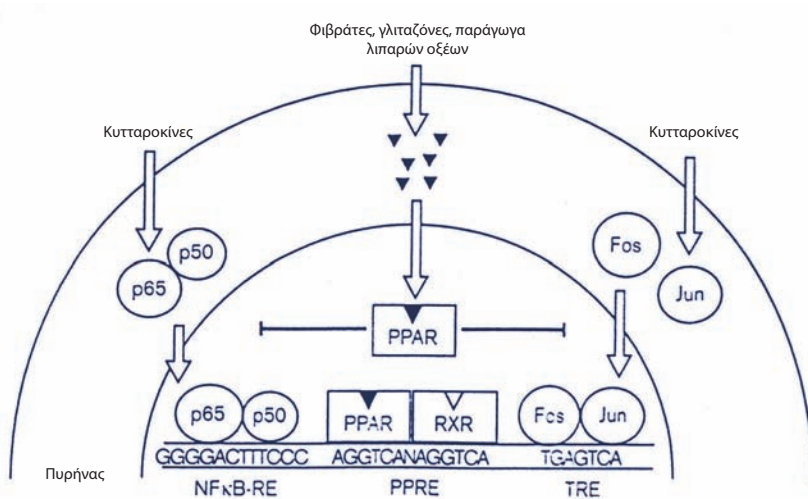
### Στοιχεία γενετικής που σχετίζονται με τους υποδοχείς PPARs

Οι πυρηνικοί υποδοχείς, στους οποίους ανήκουν και οι υποδοχείς-PPARs, είναι διαλυτές πρωτεΐνες που έχουν σημεία σύνδεσης με το DNA. Ενώνεται με τον αγωνιστή και προάγουν την κυτταρική μεταγραφή, αφού διανύσουν την απόσταση που τους χωρίζει με τον πυρήνα ταξιδεύοντας μέσα στο κυτταρόπλασμα. Η ένωση του αγωνιστή, ο οποίος λόγω λιποδιαλυτότητας μπορεί και εισδύει δια της κυτταρικής μεμβράνης, με τον υποδοχέα έχει ως αποτέλεσμα την αποκάλυψη τμήματος της πρωτεΐνης του τελευταίου, το οποίο με τη σειρά του αναγνωρίζει αλληλουχίες που ονομάζονται στοιχεία ανταπόκρισης (RE: response elements). Τα στοιχεία αυτά ευρίσκονται στο DNA κοντά στα γονίδια που πρόκειται να μεταγραφούν. Πιο αναλυτικά, οι υποδοχείς-PPARs, όταν διεγείρονται από τον αγωνιστή, σχηματίζουν ένα ετεροδιμερές με τον ρετινοειδή υποδοχέα-X (RXR: Retinoid-X-Receptor) και στην συνέχεια συνδέονται με τα PPREs που είναι στοιχεία ανταπόκρισης στη περιοχή του προαγωγέα ή παρακινήτη (promoter) του γονιδίου στόχου στο DNA. Με τον τρόπο αυτό ρυθμίζουν τη μεταγραφή και το σχηματισμό του αντίστοιχου mRNA (messenger RNA: αγγελιαφόρο RNA). Παράλληλα, η διέγερση των υποδοχέων αυτών προκαλεί τη στράτευση παραγόντων που ονομάζονται άλλοι μεν συν-ενεργοποιητές άλλοι δε συν-κατασταλτές. Οι παράγοντες αυτοί γεφυρώνονται με τους βασικούς μεταγραφικούς μηχανι-



**Εικόνα 7.8: Μηχανισμός δράσης των υποδοχέων PPARs στο επίπεδο της μεταγραφής γονιδίων.** Οι υποδοχείς-PPAR όταν διεγείρονται σχηματίζουν ένα ετεροδιμερές με τον ρετινοειδή υποδοχέα-X (RXR: Retinoid X Receptor) και στη συνέχεια συνδέονται με τα PPREs που είναι στοιχεία ανταπόκρισης στην περιοχή του προαγωγέα του γονιδίου στόχου στο DNA. Με τον τρόπο αυτό ρυθμίζουν τη μεταγραφή και το σχηματισμό του αντίστοιχου mRNA.

*Trends Pharmacol. Sci.* 21: 469-474 (2000)



**Εικόνα 7.9: Άμεσες και έμμεσες ενέργειες των υποδοχέων PPARs στο επίπεδο της μεταγραφής των γονιδίων.** Μετά την ενεργοποίησή τους, οι υποδοχείς PPARs σχηματίζουν ένα ετεροδιμερές με τον ρετινοειδή-Χ πυρηνικό υποδοχέα (RXR: Retinoid-X Receptor) και συνδέονται με τα στοιχεία ανταπόκρισης (PPREs) στην περιοχή του προαγωγέα των γονιδίων στόχων ρυθμίζοντας τη μεταγραφή. Οι υποδοχείς PPARs έχουν επίσης τη δυνατότητα να καταστέλλουν τη μεταγραφή γονιδίων και με μηχανισμούς ανεξάρτητους της σύνδεσης με το DNA. Αυτό γίνεται γιατί παρεμβάλλονται αρνητικά σε βιοχημικούς δρόμους που μεθοδεύονται με τους μεταγραφικούς παράγοντες NF-κB (p50/p65) και AP-1 (Fos/Jun).

*Cur. Opin. Lipidology 10: 151-159 (1999)*

σμούς και ενδυναμώνουν ή εξασθενούν ανάλογα τη μεταγραφική διαδικασία (7,10-22).

Η έναρξη της μεταγραφής του DNA γίνεται με τη σύνδεση του ενζύμου πολυμεράση- RNA που αναγνωρίζει και συνδέεται με μία καθορισμένη περιοχή του DNA σχηματίζοντας το σύμπλοκο έναρξης. Η προαναφερθείσα περιοχή χαρακτηρίζεται από μία καθορισμένη αλληλουχία βάσεων και ονομάζεται, όπως προαναφέρθηκε, προαγωγέας. Η πολυμεράση-RNA κινείται γρήγορα κατά μήκος του μορίου του DNA ξεχωρίζοντας τις δύο έλικες και χρησιμοποιώντας τη μία σαν πρότυπο τη μεταγράφει, σχηματίζοντας το αντίστοιχο mRNA. Μια άλλη περιοχή του DNA που ονομάζεται επιταχυντής (enhancer) επιτείνει την ταχύτητα μεταγραφής. Οι ενδοπυρηνικοί μεταγραφικοί παράγοντες αναγνωρίζουν μικρές περιοχές στους προαγωγείς και τους επιταχυντές στο DNA και με τον τρόπο αυτό επιταχύνεται ή επιβραδύνεται ανάλογα η εξέλιξη της μεταγραφής από τη RNA-πολυμεράση. Το συντιθέμενο mRNA, και μάλιστα στην τελική μορφή του, είναι εκείνο που μεταφέρει τον γενετικό κώδικα με βάση τον οποίο συντίθενται οι πρωτεΐνες στα ριβοσωμάτια (22,23).

Παράλληλα, οι υποδοχείς-PPARs καταστέλλουν τη μεταγραφή γονιδίων με μηχανισμό που δεν έχει σχέση με το DNA. Αυτό γίνεται γιατί συνδέονται με ενδοπυρηνικούς μεταγραφικούς παράγοντες όπως ο NF-κΒ, ο STAT και η AP-1 και παρεμβάλλονται ανασταλτικά στις οδούς σήματος που μεθοδεύονται από τους παράγοντες αυτούς. Η σύνδεση γίνεται με αντίδραση πρωτεΐνης προς πρωτεΐνη, με αποτέλεσμα το σχηματισμό αδρανών συμπλόκων (1,23-25).

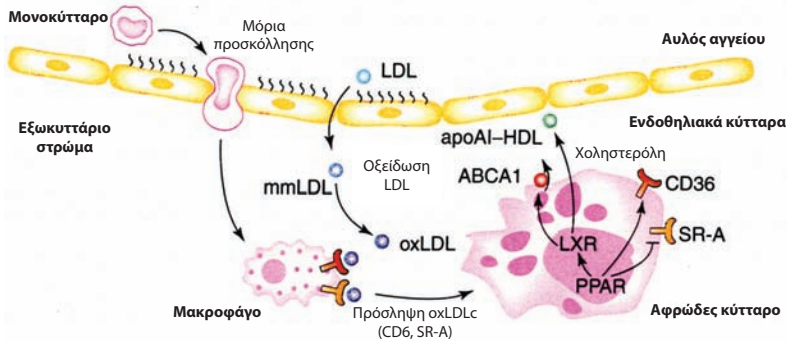
### **ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ PPARs ΚΑΙ ΑΘΗΡΩΜΑΤΩΣΗ**

Όπως ήδη ελέχθη, η αθηρωμάτωση είναι μια χρόνια φλεγμονώδης πάθηση των αρτηριών η οποία μπορεί να οδηγήσει σε οξεία κλινικά επεισόδια τα οποία είναι αποτέλεσμα της ρήξης της πλάκας και της θρόμβωσης που επακολουθεί.

Πρόκειται για μια παθολογική κατάσταση κατά την οποία κυριαρχεί η δυναμική ανταλλαγή σημάτων αφενός μεταξύ των δομικών κυττάρων του αγγειακού τοιχώματος, όπως είναι τα ενδοθηλιακά κύτταρα και οι λείες μυϊκές ίνες, αφετέρου των διηθούντων κυττάρων, όπως είναι τα μονοκύτταρα/μακροφάγα και τα λεμφοκύτταρα. Μεταξύ των στόχων αποδεκτών των σημάτων αυτών περιλαμβάνονται και οι υποδοχείς PPARs (6).

Οι υποδοχείς PPARs έχουν εντοπισθεί στις αθηρωματικές αλλοιώσεις στον άνθρωπο μαζί με τα μακροφάγα, τις λείες μυϊκές ίνες και τα αφρώδη κύτταρα. Ο βαθμός εντοπισμού στις αθηρωματικές πλάκες ποικίλλει από άτομο σε άτομο και από αγγείο σε αγγείο. Ειδικότερα, οι υποδοχείς-PPARα έχουν εντοπισθεί στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στις λείες μυϊκές ίνες του αγγειακού τοιχώματος. Επίσης έχουν εντοπισθεί στα μονοκύτταρα και στα μακροφάγα που προέρχονται από τα μονοκύτταρα. Τόσο οι υποδοχείς PPARα όσο και οι υποδοχείς-PPARγ έχουν εντοπισθεί στα δύο τρίτα των αθηρωματώδων αλλοιώσεων τόσο στα στεφανιαία αγγεία όσο και στις καρωτίδες. Παράλληλα, η παρουσία των πρώτων στις αθηρωματικές πλάκες πλεονεκτεί αριθμητικά της παρουσίας των δεύτερων (1).

Οι υποδοχείς-PPARs οι οποίοι έχουν εντοπισθεί σε όλα τα στάδια της αθηρωματώδους διαδικασίας ρυθμίζουν ευνοϊκά την έκφραση πολλών γονιδίων τα οποία ελέγχουν το μεταβολισμό των λιπιδίων, των λιποπρωτεϊνών και την ομοίωση της γλυκόζης, δηλαδή παραγόντων που προάγουν την αθηρωμάτωση. Οι υποδοχείς PPARs αναστέλλουν τη γονιδιακή έκφραση αρκετών επαγόντων παραγόντων που σχετίζονται με τη λειτουργία των ενδοθηλιακών κυττάρων, των μονοκυττάρων-μακροφάγων και των λείων μυϊκών ινών, καθώς επίσης και την προαγωγή των τοπικών φλεγμονωδών απαντήσεων στο επίπεδο της εξελισσόμενης αθηρωματικής πλάκας. Η ρύθμιση



**Εικόνα 7.10: Ο ρόλος των υποδοχών PPARs στην αθηρωμάτωση.** Η λιποπρωτεΐνη LDL υφίσταται οξείδωση στην υπενδοθηλιακή στιβάδα μετατρέπόμενη προοδευτικά σε οξειδωμένη μορφή oxLDL. Τα μονοκύτταρα μεταναστεύουν στην υπενδοθηλιακή στιβάδα και διαφοροποιούνται προς μακροφάγα. Η πρόσληψη των oxLDL από τους υποδοχείς αποκομιδής CD36 και SR-A των μακροφάγων οδηγεί στο σχηματισμό αφρωδών κυττάρων. Η πρόσληψη των oxLDL από τα μακροφάγα ενεργοποιεί τον υποδοχέα PPAR $\gamma$ , γεγονός που προάγει την έκφραση των υποδοχών αποκομιδής CD36 και των υποδοχών LXR $\alpha$  (Liver X Receptor  $\alpha$ ) και ελαττώνει την έκφραση των υποδοχών αποκομιδής SR-A. Οι οξυστερόλες διεγείρουν τους υποδοχείς LXR $\alpha$  οι οποίοι με τη σειρά τους διεγείρουν την έκφραση των ABCA1 (ATP- Binding Cassette Transporter A1). Οι τελευταίοι μεταφέρουν τη χοληστερόλη στους αποδέκτες της απολιποπρωτεΐνη AI (apoAI) – υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη (HDL).

*Trends Pharmacol. Sci.* 22: 441-443 (2001)

αυτή της αθηρωματώδους διαδικασίας από τους υποδοχείς PPARs γίνεται τόσο σε μεταβολικό όσο και σε τοπικό αγγειακό επίπεδο. Επίσης, οι υποδοχείς PPARs ρυθμίζουν γονίδια τα οποία ελέγχουν τη θρομβογένεση η οποία είναι συνδεδεμένη με τη ρήξη της αθηρωματικής πλάκας (2,4,10).

Δεδομένου ότι τα ενδοθηλιακά κύτταρα, οι λείες μυϊκές ίνες του αγγειακού τοιχώματος και τα μακροφάγα αποτελούν τους τρεις κύριους τύπους αντιδρώντων κυττάρων κατά την εξέλιξη της αθηρωμάτωσης, στις γραμμές που ακολουθούν γίνεται μια συνοπτική περιγραφή των σχέσεων των κυττάρων αυτών με τους υποδοχείς PPARs.

### **Η εμπλοκή του ενδοθηλίου**

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα που σχηματίζουν τη στιβάδα που διαχωρίζει το αγγειακό τοίχωμα από το κυκλοφορούν αίμα, πέραν του ότι ασκούν βασικό ρόλο όσον αφορά τον έλεγχο του αγγειακού τόνου και της ομοιόστασης, προσδιορίζουν επίσης και την έκφραση πολλών αθηρωματογόνων και αντι-αθηρωματικών γονιδίων. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα διαθέτουν υποδοχείς PPAR $\alpha$  και PPAR $\gamma$  (26).

Οι ox-LDL έχουν την ικανότητα να διεγείρουν τα ενδοθηλιακά κύτταρα

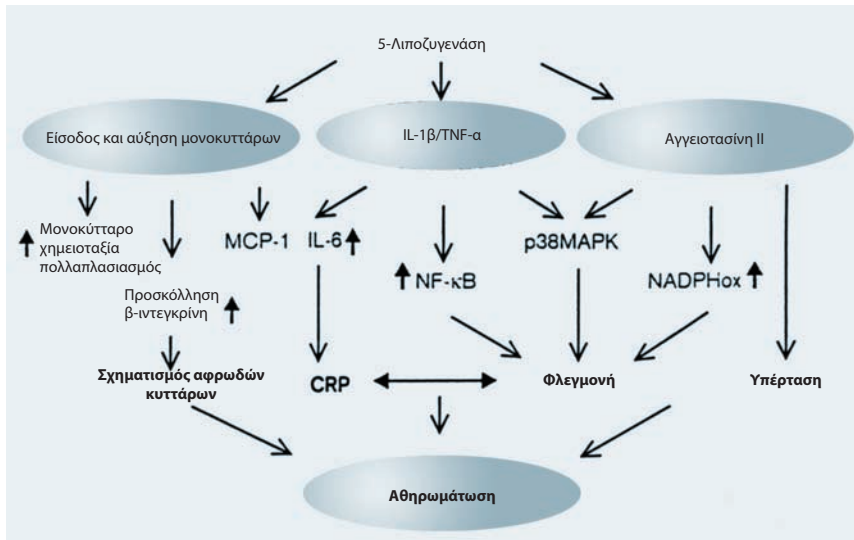
στο να συνθέτουν και να απελευθερώνουν χημειοτακτικούς παράγοντες όπως η MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein-1) και η ιντερλευκίνη IL-8 και να συνδέονται με τα μονοκύτταρα. Διεγείρουν επίσης τα ενδοθηλιακά κύτταρα στο να προάγεται η γονιδιακή έκφραση μορίων προσκόλλησης και αυξητικών παραγόντων. Κατά την οξειδωτική κατάπτωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων, τα αλκυλο-φωσφολιπίδια που περιέχουν αιθερικό δεσμό γίνονται αγωνιστές του υποδοχέα του ενεργοποιητικού παράγοντα των αιμοπεταλίων (PAF: Platelet Activating Factor) στα ενδοθηλιακά κύτταρα και διεγείρουν τόσο τα αιμοπετάλια όσο και τα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα και τα μονοπύρρηνα. Πιστεύεται ότι τα οξειδωμένα αλκυλο-φωσφολιπίδια προκαλούν τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων μέσω του υποδοχέα του PAF, ενώ τα αλκυλο-λιπίδια προάγουν μόνο τη μεταβολή του σχήματός των. Και τα δύο όμως είδη των λιπιδίων αναστέλλουν την ενδοθηλιοεξαρτώμενη αρτηριακή διαστολή (3,6).

Τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια που εισέρχονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα με ενδοκύττωση, προάγουν την αύξηση του  $Ca^{2+}$  σε αυτά και ενεργοποιούν βιοχημικούς δρόμους που εξαρτώνται από την πρωτεϊνική κινάση του ενεργοποιημένου μιτογόνου (MAP: Mitogen Activated Protein-Kinase). Μέσω των οδών αυτών διεγείρονται πολλοί μεταγραφικοί παράγοντες που έχουν σχέση με τη φλεγμονή, όπως ο EGRP-1, ο NFAT και ο CREB (3).

Ειδικότερα, ένα από τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια, το oxPAPC (oxidized 1-palmitoyl-2-arachidonoyl-sn-glycerol-3-phosphorylcholine) έχει την ικανότητα να διεγείρει γονίδια όπως το MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein 1: Χημειοτακτική πρωτεΐνη 1 των μονοκυττάρων), το GRO- $\alpha$  (Growth Related Oncogene- $\alpha$ : Ογκογονίδια σχετιζόμενα με την ανάπτυξη) και το γονίδιο της IL-8, ουσιών δηλαδή που έχουν βασικό ρόλο στην αθηρωμάτωση, την αγγειογένεση και τη φλεγμονή. Παράλληλα, αναβαθμίζει την έκφραση του ιστικού παράγοντα (TF: Tissue Factor). Το oxPAPC είτε δρα σε μεμβρανικούς υποδοχείς των ενδοθηλιακών κυττάρων είτε διαπερνά τη μεμβράνη και δρα σε εσωτερικούς υποδοχείς (3).

Επίσης, τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια καταστέλλουν στα ενδοθηλιακά κύτταρα του ανθρώπου την έκφραση του γονιδίου της θρομβομοδουλίνης, μιας γλυκοπρωτεΐνης με αντιπηκτική δράση. Τη δράση αυτή την ασκούν εμποδίζοντας τη σύνδεση ετεροδιμερών του πυρηνικού υποδοχέα-RXR με τον προαγωγέα του γονιδίου που κωδικοποιεί τη θρομβομοδουλίνη. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, ο υποδοχέας PPARs δρα ως ετεροδιμερές σύμπλοκο με τον υποδοχέα RXR (3).

Παράλληλα, τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια διεγείρουν προστατευτικές οδούς στα ενδοθηλιακά κύτταρα, όπως εκείνη που οδηγεί στην αύξηση της σύνθεσης της γλουταθειόνης και εκείνη που προκαλεί την αυξημένη έκφρα-



**Εικόνα 7.11: Η 5-λιποξυγενάση συμβάλλει στην εξέλιξη πολλών μηχανισμών που έχουν σχέση με την αθηρωμάτωση.** Σχηματική παράσταση των βιοχημικών οδών που διεγείρονται από τη 5-λιποξυγενάση και οδηγούν στην αθηρωματική βλάβη. Όπου CRP (C Reactive Protein), IL (Interleukin), MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase), MCP (Monocyte Chemotactic Protein), NADPH (Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate, αναχθείσα μορφή), NF-κΒ (Nuclear factor-κΒ), TNF-α (Tumor Necrosis Factor-α)  
*Cur. Opin. Lipidol. 14 (2003)*

ση της οξειγενάσης της αίμης, δηλαδή ενζύμων με αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Γενικά θα μπορούσε να λεχθεί ότι τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια διεγείρουν και μηχανισμούς που ομοιάζουν με εκείνους της προσαρμογής στο οξειδωτικό στρες. Επίσης οι ίδιες ουσίες, καθώς και οι κατ'ελάχιστον τροποποιημένες LDL (mmLDL: minimally modified LDL), αναστέλλουν την αναβάθμιση της έκφρασης των μορίων προσκόλλησης στο ενδοθήλιο η οποία προκαλείται από τις λιποπολυσακχαρίδες πιθανόν γιατί εμποδίζουν την αναγνώρισή τους από τα κύτταρα αυτά. Πιο συγκεκριμένα, πιστεύεται ότι οι ουσίες αυτές εμποδίζουν την ένωση των λιποπολυσακχαριδών με τις πρωτεΐνες CD14 και LBP, στις οποίες έχει ήδη γίνει αναφορά, ώστε οι τελευταίοι να μη μπορούν να ενωθούν με τον υποδοχέα τους, δηλαδή τον υποδοχέα-TLR. Πιθανόν, λοιπόν, ο σχηματισμός των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων να είναι ένας αρνητικός μηχανισμός ανατροφοδότησης (feedback) στις φλεγμονές από αρνητικά κατά Gram μικρόβια. Γενικά, όμως, οι επιμέρους μηχανισμοί με τους οποίους τα οξειδωμένα φωσφολιπίδια διεγείρουν τα ενδοθηλιακά κύτταρα δεν είναι απόλυτα γνωστοί και τα πράγματα περιπλέκονται ακόμη περισσότερο καθώς νέες δομές οξειδωμένων φωσφολιπιδίων πιστοποιούνται συνεχώς (3).

Οι υποδοχείς PPARs ανταγωνίζονται με διάφορους μηχανισμούς στο επίπεδο των ενδοθηλιακών κυττάρων τα φλεγμονώδη φαινόμενα που σχετίζονται με την εξέλιξη της αθηρωμάτωσης.

Οι υποδοχείς PPARs δρουν κατασταλτικά και ανταγωνίζονται τις κυτταροκίνες οι οποίες διεγείρουν στα ενδοθηλιακά κύτταρα τη γονιδιακή έκφραση των μορίων προσκόλλησης VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule-1), ICAM-1 (Intracellular Adhesion Molecule-1) και των χημειοκινών. Επίσης, η ενεργοποίηση των υποδοχέων PPARα εμποδίζει την έκφραση του γονιδίου της ενδοθηλίνης-1 (ET-1) που προάγεται από τη θρομβίνη. Ως γνωστόν, η ET-1 είναι η ισχυρότερη αγγειοσυσπαστική ουσία που συντίθεται από το ενδοθήλιο. Στην περίπτωση αυτή, ο μηχανισμός δράσης των υποδοχέων PPARα συνίσταται στην αναστολή της ενεργοποίησης του μεταγραφικού παράγοντα NF-κB (4,8,16).

Υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι η 5-λιποξυγενάση (5LOX: 5-Lipoxygenase) συμβάλλει στην εξέλιξη της αθηρωμάτωσης δρώντας σε διάφορα στάδια, για παράδειγμα στην έναρξη της βλάβης, στην αύξηση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων εντός της αθηρωματώδους αλλοίωσης και στην αποσταθεροποίηση των αθηρωματικών πλακών που μπορεί να οδηγήσει στη ρήξη τους. Το ένζυμο αυτό, εκτός του ότι καταλύει τη σύνθεση των λευκοτριενών (LTs: Leukotrienes), εμπλέκεται και στη μετάδοση σημάτων προς τον πυρήνα. Μία από τις LTs, η LTB<sub>4</sub> συνδέεται με τους υποδοχείς PPARα σε κύτταρα όπως τα ενδοθηλιακά όπου οι υποδοχείς αυτοί είναι έντονα εκφρασμένοι και διεγερμένοι, προάγοντας τη γονιδιακή μεταγραφή. Παράλληλα, η LTB<sub>4</sub> συνδέεται και απ' ευθείας με το DNA και το RNA οδηγώντας πιθανόν σε ρυθμίσεις που μπορεί να επηρεάσουν την εξέλιξη της αγγειακής βλάβης. Μεταξύ αυτών αναφέρεται η διέγερση της γονιδιακής έκφρασης της μεταλλοπρωτεϊνάσης MMP-1, γεγονός που αυξάνει την αστάθεια της αθηρωματικής πλάκας (6).

### **Ο ρόλος των υποδοχέων PPARs στα μονοκύτταρα - μακροφάγα**

Είναι γνωστό ότι η προσέλκυση των μονοκυττάρων του αίματος, το κύλισμα, η ενεργοποίηση και η παγίδευση αυτών στο ενδοθήλιο μεθοδεύονται από έναν μεγάλο αριθμό χημειοκινών, μορίων προσκόλλησης και υποδοχέων. Τα διηθούντα, στη συνέχεια, το αγγειακό τοίχωμα διεγερθέντα μονοκύτταρα του αίματος πολλαπλασιάζονται και διαφοροποιούνται προς μακροφάγα. Παράγοντες όπως ο M-CSF (Macrophage Colony Stimulating Factor) και ο GM-CSF (Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor) ρυθμίζουν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των μακροφάγων. Στη συνέχεια, τα κύτταρα αυτά, μεταξύ άλλων, εγκολπώνονται τα οξειδωμένα λιπίδια και τη χοληστερόλη μέσω των υποδοχέων αποκομιδής (1,3,6).

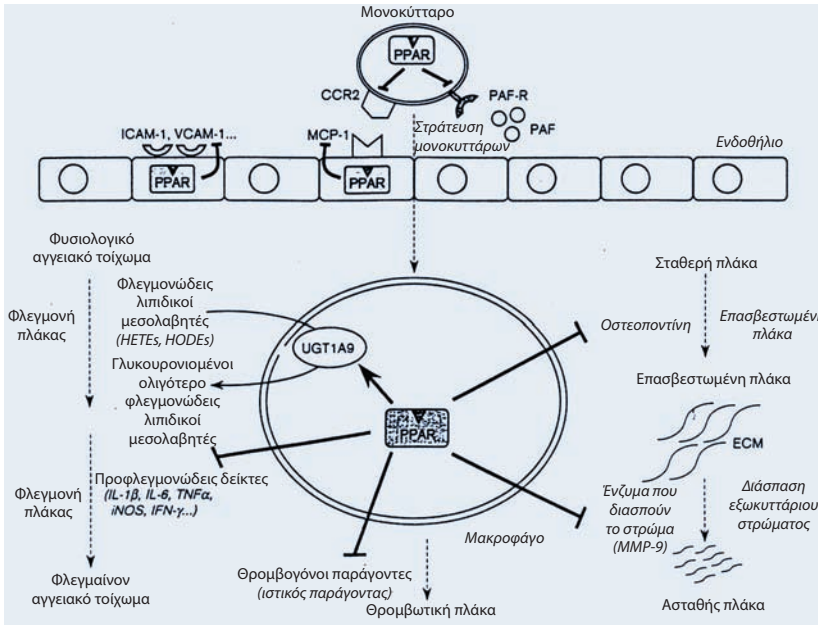
Υπάρχουν διάφορες αναφορές που σχετίζονται με την παρουσία των υποδοχέων PPARs στα μακροφάγα. Οι υποδοχείς-PPARα έχουν εντοπισθεί στα μονοκύτταρα και αναπτύσσονται έντονα κατά τη φάση διαφοροποίησης των μονοκυττάρων προς μακροφάγα στα πρώτα στάδια της φλεγμονής. Αντίθετα, οι υποδοχείς- PPARγ δεν είχαν εντοπισθεί αρχικά τουλάχιστον στα μονοκύτταρα, αλλά μόνο όταν αυτά διαφοροποιούνται σε μακροφάγα. Υπήρχε η άποψη ότι μπορεί να παίζουν κάποιο ρόλο στη διαφοροποίηση αυτή, δεδομένου ότι ανάλογος ρόλος είχε διαπιστωθεί κατά τη διαφοροποίηση άλλων κυττάρων όπως είναι τα κύτταρα στον λιπώδη ιστό και στον καρκίνο του μαστού. Σήμερα υπάρχουν αναφορές για την παρουσία τους και στα μονοκύτταρα (4,7,18,27).

Η τελική ποσότητα συσσώρευσης των λιπιδίων στα μακροφάγα επηρεάζεται από τη σχέση πρόσληψης λιπιδίων και εξόδου της χοληστερόλης. Οι υποδοχείς PPARs αποτελούν σημεία κλειδιά για την ομοιοστάση της χοληστερόλης στα μακροφάγα. Οι υποδοχείς PPARs ελέγχουν τα πρώτα βήματα της αντίστροφης μεταφοράς της χοληστερόλης δρώντας με διαφορετικούς μηχανισμούς (4).

Τόσο οι υποδοχείς PPARα όσο και οι αντίστοιχοι PPARγ επιτείνουν τη γονιδιακή έκφραση του υποδοχέα CD36 της HDL και του LIMPII-αναλογικού 1 (CLA-1) / υποδοχέα αποκομιδής B1 (SR-B1), καθώς και του μεταφορέα ABCA1(ATP- Binding Cassette Transporter A1) που ανήκει στην οικογένεια των πρωτεϊνών μεταφορέων ABC. Η αυξημένη έκφραση του ABCA1 προάγει την μέσω της αροΑΙ έξοδο της χοληστερόλης. Με τον τρόπο αυτό σχηματίζεται εκ νέου HDL και διευκολύνεται η απομάκρυνση της χοληστερόλης από τα μακροφάγα των περιφερειακών ιστών και η μεταφορά της πίσω στο ήπαρ, όπου η ουσία αυτή αποβάλλεται στα χοληφόρα είτε άμεσα είτε μετατρεπόμενη σε χολικά άλατα. Αντίθετα, οι υποδοχείς PPAR β/δ υποβαθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση της 27-υδροξυλάσης της χοληστερόλης και της αροΕ, δηλαδή ουσίων που προάγουν την έξοδο της χοληστερόλης από τα μακροφάγα με μηχανισμό ανεξάρτητο της ABCA1 (4).

Υπάρχουν όμως και άλλες κοινές δράσεις των υποδοχέων PPARα και PPARγ. Αγωνιστές των υποδοχέων αυτών καταστέλλουν την πρόσληψη της γλυκοζυλιωμένης LDL από τα μακροφάγα. Πρόκειται για μικρομόρια που περιέχουν γλυκοζυλιωμένη αροΒ η οποία έχει αθηρογόνους ιδιότητες και προσλαμβάνεται από τα μακροφάγα με μηχανισμό που εξαρτάται από τη λιποπρωτεϊνική λιπάση (LPL). Το περίεργο είναι ότι ενώ καταστέλλουν την έκφραση του γονιδίου που κωδικοποιεί τη LPL, από την άλλη πλευρά αυξάνουν την ενεργότητα του ενζύμου. Έχει όμως διαπιστωθεί ότι η δράση των αγωνιστών των παραπάνω υποδοχέων η οποία αφορά την αναστολή της συσσώρευσης λιποπρωτεϊνών πλούσιων σε τριγλυκερίδια στα μακροφάγα





**Εικόνα 7.12: Επί μέρους ενέργειες των υποδοχέων PPARs στη ρύθμιση της προσκόλλησης των μονοκυττάρων και στη φλεγμονή που μεθοδεύεται από τα μακροφάγα.**

Οι υποδοχείς PPARα και PPARγ επηρεάζουν τη στράτευση και την προσκόλληση των μονοκυττάρων μέσα από διαφορετικούς μηχανισμούς. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται η ελάττωση της χημειοαtractικής πρωτεΐνης-1 των μονοκυττάρων (MCP-1: Monocyte Chemoattractant Protein-1), του αγγειακού μορίου προσκόλλησης-1 (VCAM-1: Vascular Cell Adhesion Molecule-1), του διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης-1 (ICAM-1: Intercellular Cell Adhesion Molecule-1) του ενδοθηλίου και του υποδοχέα για τον ενεργοποιητικό παράγοντα των αιμοπεταλίων (PAF-R: Platelet Activating Factor Receptor) στα μονοκύτταρα. Επιπλέον, ο υποδοχέας PPARγ επηρεάζει αρνητικά τη στράτευση των μονοκυττάρων από την MCP-1 ελαττώνοντας την έκφραση του υποδοχέα των χημειοκινών CCR2 (Chemokine Receptor 2). Η ενεργοποίηση των υποδοχέων MCP-1 στα μονοκύτταρα του ανθρώπου αναστέλλει τη σύνθεση των φλεγμονογόνων παραγόντων, όπως ο νεκρωτικός των όγκων παράγοντας (TNF-α: Tumor Necrosis Factor-α), της επαγόμενης συνθέσεως του NO (iNOS: Inducible Nitric Oxide Synthase), των ιντερλευκινών IL-6 και IL1β. Επιπλέον, ο υποδοχέας PPARα στα μακροφάγα αναστέλλει την έκφραση του θρομβογενούς παράγοντα των ιστών. Οι υποδοχείς PPARs ελέγχουν τη σύνθεση και σταθερότητα του εξωκυττάρου στρώματος (ECM: Extracellular Matrix) αναστέλλοντας την έκφραση της μεταλλοπρωτεϊνάσης-9 (MMP-9: Metalloproteinase-9) και της οστεοποντίνης. Οι υποδοχείς PPARα και PPARγ επάγουν την έκφραση και ενεργότητα της διφωσφορικής-γλυκορονοσιλικής μεταφοράς της ουριδίνης (UGT1A9: Uridine Diphosphate-Glucosyl Transferase), η οποία καταλύει τη γλυκουρονίδωση των υδροξυεικοσιτετρανοϊκών (HETEs: Hydroxyeicosatetraenoic) ή των υδροξυ-s-10,12-οκταδεκαδιενοϊκών (HODEs: Hydroxy-s-10,12-octadecadienoic) οξέων. Ορισμένα από τα παράγωγα αυτά είναι ενδογενείς αγωνιστές των υποδοχέων PPARα και PPARγ. Η γλυκουρονίδωση των HETEs και HODEs από την UGT1A9 μπορεί δυνητικά να συμβάλει στο μεταβολισμό αυτών των φλεγμονογόνων μεσολαβητών.

*Cur. Opin. Lipidology* 14: 459-468 (2003)

οφείλεται και σε καταστολή της έκφρασης του γονιδίου που κωδικοποιεί τον υποδοχέα της  $\text{ar}\beta\text{48}$ . Η δυναμική ισορροπία μεταξύ εισόδου και εξόδου των λιπιδίων από τα μακροφάγα και ο έλεγχος που ασκούν οι υποδοχείς PPARs αποτελούν μια καθοριστική συνισταμένη η οποία δεσπόζει στη διαδικασία εξέλιξης της αθηρωμάτωσης (4).

Έχει ήδη τονιστεί κατ' επανάληψη ότι η αθηρωματική διαδικασία μόλις εγκατασταθεί αποκτά όλα τα χαρακτηριστικά μιας κλασικής φλεγμονώδους απάντησης με τις συνεπακόλουθες ανοσιακές αποκρίσεις. Ο ρόλος των υποδοχέων PPARs και σε αυτό το σημείο είναι καθοριστικός. Είναι πλέον διαπιστωμένο ότι οι υποδοχείς PPARs δρουν ανασταλτικά στη στράτευση και κατακράτηση των μονοκυττάρων, σημείο καθοριστικό για την κινητοποίηση της φλεγμονώδους αντίδρασης. Οι αγωνιστές των υποδοχέων-PPARa αναστέλλουν επίσης τη δραστηριότητα των μακροφάγων, τα οποία υπό την επίδραση φλεγμονογόνων παραγόντων εκκρίνουν παράγοντες της φλεγμονής και λυτικά ένζυμα, σταθεροποιώντας την αθηρωματική πλάκα. Έχει διαπιστωθεί ότι η διέγερση του υποδοχέα PPARa στα μακροφάγα του ανθρώπου που προέρχονται από τα μονοκύτταρα αναστέλλει τη μεταγραφική ικανότητα γονιδίων που σχετίζονται με τη φλεγμονώδη αντίδραση, όπως εκείνων που κωδικοποιούν τον ιστικό παράγοντα και τη μεταλλοπρωτεΐνωση 9. Επίσης οι υποδοχείς-PPARa των μακροφάγων αναστέλλουν τη δράση της συνθετάσης του NO. Ο ίδιος υποδοχέας δρα ανασταλτικά στην ενεργοποίηση της σφιγγομυελινάσης από τον φλεγμονογόνο παράγοντα TNF- $\alpha$ . Πρόκειται για μια βιοχημική οδό η οποία οδηγεί στη δημιουργία της κεραμίδης, ενός δεύτερου αγγελιαφόρου που εμπλέκεται σε πολλές κυτταρικές λειτουργίες, περιλαμβανόμενης και της απόπτωσης. Επιπλέον, παρουσία υψηλότερων συγκεντρώσεων TNF- $\alpha$ ., τόσο ο υποδοχέας PPARa όσο και ο υποδοχέας PPAR $\gamma$  προάγουν την απόπτωση των μακροφάγων (4,16).

Στα ίδια κύτταρα, οι υποδοχείς-PPAR $\gamma$  καταστέλλουν τη μεταγραφική ανταπόκριση γονιδίων που σχετίζονται με τη φλεγμονή όπως τα γονίδια που κωδικοποιούν την επαγόμενη συνθετάση του NO (iNOS), την κυκλοοξυγενάση-2 (COX-2) που οδηγεί στη σύνθεση της προσταγλανδίνης  $E_2$ , τη μεταλλοπρωτεΐνωση 9, τον TNF- $\alpha$ ., τις ιντερλευκίνες IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-10, IL-12 και τον αντιθρομβωτικό παράγοντα θρομβοδουλίνη, του οποίου καταστέλλουν επίσης και την ενεργότητα. Από το άλλο μέρος, οι αγωνιστές των υποδοχέων-PPAR $\gamma$  προάγουν την απόπτωση των κυττάρων αυτών (3,4).

Ένας ακόμη αντιφλεγμονώδης μηχανισμός των υποδοχέων PPARs που σχετίζεται με τα μακροφάγα είναι η διέγερση του γονιδίου που κωδικοποιεί το ένζυμο διφωσφορική ουριδινική γλυκουρονοσυλτρανσφεράση (UGT1A9), το οποίο καταλύει τη γλυκουρονιδίωση και κατ' επέκταση την απομάκρυνση διαφόρων ενδογενών και εξωγενών ουσιών. Μεταξύ αυτών

περιλαμβάνονται προϊόντα μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος από τη LOX και την COX. Ορισμένα από τα προϊόντα αυτά, όπως το 15-υδροξυεικοσατετραενοϊκό οξύ (15-HETE) και το 13-υδροξυοκταδεκαδιενοϊκό οξύ (13-HODE), είναι ενδογενείς αγωνιστές των υποδοχέων PPARs και αποτελούν φλεγμονογόνους λιπιδικούς μεσολαβητές. Ειδικότερα, μία από τις λευκοτριένες (LTs), η LTB<sub>4</sub>, συνδέεται με τους υποδοχείς PPARα σε κύτταρα μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται και τα μακροφάγα στις αθηρωματικές βλάβες (4,6).

Το ένζυμο που προάγει τη σύνθεση των διαφόρων LTs, δηλαδή η 5LOX, πιστεύεται ότι προάγει τόσο τη διεγερτική ικανότητα και δράση όσο και την επιβίωση των κυττάρων αυτών οδηγώντας στην αύξηση των αγγειακών αλλοιώσεων, χωρίς να είναι γνωστοί οι επί μέρους μηχανισμοί. Η 5LOX έχει ευρεθεί και στα μονοκύτταρα/ μακροφάγα, στα δενδριτικά κύτταρα και στα ιστιοκύτταρα των αθηρωματικών βλαβών σε επίπεδα που αυξάνονται προοδευτικά καθώς εξελίσσεται η βλάβη (6).

Οι πληροφορίες για πιθανή δράση των υποδοχέων PPARβ/δ στα μακροφάγα κατά τη φλεγμονή είναι πολύ λίγες. Μεταξύ άλλων, έχει ευρεθεί ότι οι υποδοχείς αυτοί αυξάνουν την έκφραση των γονιδίων που κωδικοποιούν και τους δύο υποδοχείς αποκομιδής, δηλαδή τον υποδοχέα αποκομιδής A και τον υποδοχέα CD36. Με το μηχανισμό αυτό συμβάλλουν στην πρόσληψη των λιπιδίων από τα μακροφάγα και στη μετατροπή τους σε αφρώδη κύτταρα. Έχει επίσης ευρεθεί ότι αγωνιστές των υποδοχέων PPAR<sub>β/δ</sub> στα μακροφάγα αυξάνουν την έκφραση των γονιδίων που κωδικοποιούν δεσμευτική πρωτεΐνη τύπου A των λιπαρών οξέων στο λιπώδη ιστό (Adipose type A/fatty acid binding protein), ενώ η διέγερση των υποδοχέων αυτών από τη VLDL και συνθετικούς αγωνιστές διεγείρει τα γονίδια που κωδικοποιούν τη λιποφιλίνη. Η πρωτεΐνη αυτή αποτελεί δείκτη φόρτωσης των μακροφάγων με λιπίδια και βασικό συστατικό επικάλυψης των ενδοκυττάρων λιπιδικών σταγονιδίων (4).

### **Τι συμβαίνει στις λείες μυϊκές ίνες**

Είναι γνωστό ότι κατά την εξέλιξη της αθηρωμάτωσης του αγγειακού τοιχώματος υπάρχει διαφοροποίηση και των λείων μυϊκών ινών προς μακροφάγα. Κατά τις φάσεις αυτές, οι λείες μυϊκές ίνες μεταναστεύουν προς την υπενδοθηλιακή στιβάδα όπου διαφοροποιούνται, πολλαπλασιάζονται συμβάλλοντας στην πάχυνση της αθηρωματικής πλάκας και εκκρίνουν κολλαγόνο και άλλες πρωτεΐνες στρώματος σχηματίζοντας τελικά την ινώδη κάψα. Ως εκ τούτου, παράλληλα με τον αρνητικό ρόλο που ασκούν οι λείες μυϊκές ίνες και που συνίσταται στην πάχυνση του αγγειακού τοιχώματος και στη στένωση του αγγείου, οι ίνες αυτές ασκούν και προστατευτικό ρόλο για-

τί σταθεροποιούν την αθηρωματική πλάκα συμβάλλοντας στο σχηματισμό της κάψας μαζί με τις εκκρινόμενες και διαπλεκόμενες ίνες του κολλαγόνου (6,28).

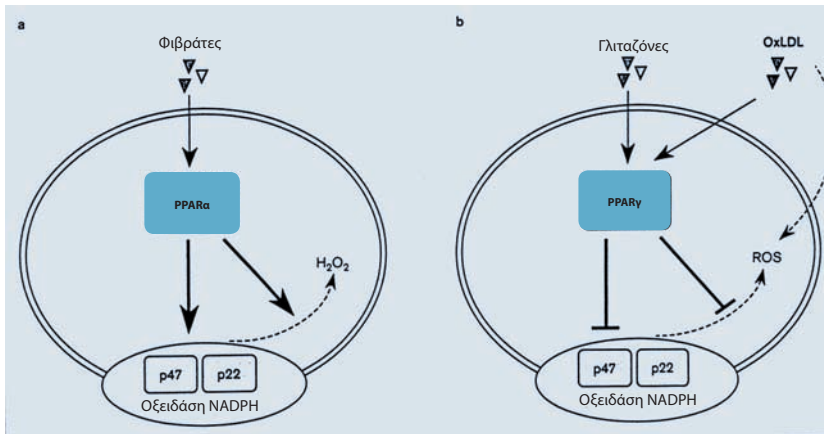
Όσον αφορά τη σχέση των υποδοχέων PPARs με τους παράγοντες της φλεγμονής στο επίπεδο αυτό, είναι γνωστό ότι η ενεργοποίηση των υποδοχέων-PPARa στον μυϊκό χιτώνα των αγγείων προκαλεί αναστολή της δράσης του ενδοπυρηνικού παράγοντα μεταγραφής NF-κB και με το μηχανισμό αυτό επέρχεται αναστολή της φλεγμονής. Είναι γνωστό ότι οι φλεγμονογόνες κυτταροκίνες TNF-α, IFN-γ (Interferon-γ) και IL-1 (Interleukin-1) προάγουν τη μεταγραφή και σύνθεση της COX-2 που αποτελεί βασικό ένζυμο για τη σύνθεση των προσταγλανδινών της φλεγμονής. Την ενέργειά τους αυτή την ασκούν ενεργοποιώντας την οδό σήματος που μεθοδεύεται από τον παράγοντα NF-κB ο οποίος, με τη σειρά του, είναι ένα σύμπλοκο των υπομονάδων p50 και p65 (2, 8,16). Παράλληλα, ο TNF-α και η IL-1β έχουν βασικό ρόλο στην υπερπλασία και τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος (6).

Έχει επίσης διαπιστωθεί ότι η διέγερση των υποδοχέων PPARγ ρυθμίζει αρνητικά την κυτταρική αύξηση, και κατ'επέκταση τον πολλαπλασιασμό και την πάχυνση του αγγειακού τοιχώματος, λόγω του ότι δρουν ανασταλτικά στη σύνδεση του μεταγραφικού παράγοντα E2F/DP με το DNA. Τέλος, η διέγερση των ίδιων υποδοχέων έχει συσχετισθεί ανασταλτικά με την αναδιαμόρφωση του αγγειακού τοιχώματος και αυτό γίνεται πιθανόν μέσω ανασταλτικών συνδέσεων με την οδό της πρωτεΐνης που ενεργοποιείται από μιτογόνους παράγοντες όπως η MAP (Mitogen Activated Protein). Η οδός αυτή είναι σημαντική για την ανάπτυξη των αυξητικών και μεταναστευτικών μηχανισμών των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος που λαμβάνει χώρα σε ανταπόκριση στις διεγέρσεις από τους αυξητικούς παράγοντες μέσω της οδού της τυροσινικής κινάσης. Μεταξύ των άλλων ενδογενών ουσιών που διεγείρουν την οδό αυτή συγκαταλέγονται η αγγειοτασίνη II, η ενδοθηλίνη ET-1 και η ινσουλίνη (7,18,29).

Τέλος, η ίδια η 5LOX, που η σχέση της με τους υποδοχείς PPARa έχει ήδη αναφερθεί, επηρεάζει θετικά τα βιοχημικά μονοπάτια της αγγειοτασίνης II. Η σχέση της τελευταίας με τον αγγειακό τόνο ως αγγειοσυσπαστικής ουσίας και με την πάχυνση του αγγειακού τοιχώματος ως αυξητικού παράγοντα είναι γνωστή (6).

### **Υποδοχείς PPARs και οξειδωτικές ρίζες**

Η διέγερση και η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, το οποίο διαδραματίζει ζωτικό ρόλο σε πολλές φυσιολογικές λειτουργίες, αποτελούν γεγονότα κλειδιά για την εξέλιξη της αθηρωματικής βλάβης και την ανάπτυξη των



**Εικόνα 7.13: Υποδοχείς PPARs και αναπνευστική έκκριση των μακροφάγων.** Η διέγερση του υποδοχέα PPARα οδηγεί στην αύξηση της παραγωγής υπεροξειδίου του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) που ανήκει στις οξειδωτικές ρίζες (ROS: Reactive Oxygen Species). Το αποτέλεσμα αυτό οφείλεται εν μέρει στη διέγερση της γονιδιακής έκφρασης των υπομονάδων p22rho και p47rho της οξειδάσης της αναχθείσης NADPH. Η διέγερση του υποδοχέα PPARγ ελαττώνει την αναπνευστική έκκριση εξασθενώντας τη γονιδιακή έκφραση των ιδίων υπομονάδων της οξειδάσης της NADPH. Η οξειδωθείσα LDL (oxLDL) όχι μόνο διεγείρει τη σύνθεση ROS, αλλά διεγείρει και τους υποδοχείς PPARγ οι οποίοι με τη σειρά τους προκαλούν την απευαισθητοποίηση των μακροφάγων ελατώνοντας τη σύνθεση των ROS.

*Cur. Opin. Lipidol 14 (2003)*

καρδιαγγειακών διαταραχών. Οι EOP που συντίθενται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και από τα περίξ φλεγμονώδη κύτταρα συμμετέχουν κατά μεγάλο ποσοστό στις παραπάνω παθολογικές διαταραχές.

Η αυξημένη σύνθεση και η απελευθέρωση των EOP συμβάλλει στη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και οδηγεί παράλληλα με τον κυτταρικό τραυματισμό σε μεταβολές της ενεργότητας πολλών παρακρινών παραγόντων, αλλά και σε διαταραχές της γονιδιακής έκφρασης και της αποπτωτικής διαδικασίας. Οι EOP λειτουργούν, επίσης, ως ενδοκυττάριοι δευτεροί αγγειοφόροι και εξουδετερώνουν το αγγειοπροστατευτικό NO (30,31).

Στις δυνητικές πηγές σύνθεσης EOP από τα ενδοθηλιακά κύτταρα περιλαμβάνονται η ξανθοοξειδάση, οι συνθετάσες του NO, οι οξειδοαναγωγάσες που εξαρτώνται από τη NAD(P)H, οι αλυσίδες μεταφοράς ηλεκτρονίων που εξαρτώνται από τη NAD(P)H, οι κυκλοοξυγενάσες, οι λιποξυγενάσες και οι αυτοοξειδούμενοι ιστικοί μεταβολίτες. Από τις πηγές αυτές, η οξειδάση της NAD(P)H αποτελεί την κυριότερη πηγή σύνθεσης EOP στο αγγειακό τοίχωμα (30).

Στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων έχει εντοπισθεί, επίσης, η οξειδάση της NAD(P)H με ιδιότητες ανάλογες με εκείνης των ενδοθηλιακών κυττάρων και

φαίνεται να εμπλέκεται στην παθοφυσιολογία της αθηρωμάτωσης και της υπέρτασης. Στην οξειδάση αυτή φαίνεται να λείπει η υπομονάδα gp91-phox του κυττοχρώματος b558, ενώ έχει εντοπισθεί μια πρωτεΐνη Mox1 (Mitogen Oxidase 1) η οποία ονομάζεται πλέον nox1, και πιστεύεται ότι αποτελεί συστατικό στοιχείο της NAD(P)H των κυττάρων αυτών (30,31).

Η οξειδάση της NADPH των ουδετεροφίλων έχει επίσης σημαντικό ρόλο στην μη ειδική ανοσιακή άμυνα ενάντια στα παθογόνα, καθώς συνθέτει μεγάλες ποσότητες EOP κατά τη διάρκεια της αποκαλούμενης «αναπνευστικής έκρηξης». Η οξειδάση της NADPH αποτελείται από το κυττόχρωμα b558 που συνδέεται με τη μεμβράνη και από τέσσερις, το λιγότερο, υπομονάδες, τις p47-phox, p67-phox, p40-phox, p21rac1 και Rap1. Το κυττόχρωμα b558 θεωρείται από πλευράς ενζυμικής σταθερότητας και ενεργότητας το βασικότερο συστατικό, καθώς ανάγει το μοριακό οξυγόνο σε υπεροξειδικό ανιόν. Το κυττόχρωμα b558 είναι ουσιαστικά ένα ετεροδιμερές που αποτελείται από την α- υπομονάδα, δηλαδή την p22-phox που είναι φαγοκυτταρική οξειδάση και την ισχυρά γλυκοζυλιωμένη β-υπομονάδα, δηλαδή τη gp91-phox. Υπό συνθήκες ηρεμίας, η οξειδάση της NADPH ευρίσκεται εν υπνώσει, πλην όμως μπορεί αστραπιαία να ενεργοποιηθεί μετά από υποδοχοεξαρτώμενα και μη ερεθίσματα (30).

Η ενδοθηλιακή οξειδάση διαφέρει σε σχέση με την αντίστοιχη των φαγοκυττάρων και φαίνεται να χρησιμεύει σε διαφορετικούς λειτουργικούς μηχανισμούς. Η ενδοθηλιακή οξειδάση είναι πάντα, έστω και χαμηλά, ενεργός, ακόμη και σε μη διεγερθέντα ενδοθηλιακά κύτταρα. Δεν παράγει ποτέ τις τεράστιες ποσότητες EOP που συντίθενται κατά την αναπνευστική έκρηξη από τα φαγοκυτταρικά ένζυμα. Η ενδοθηλιακή οξειδάση φαίνεται να χρησιμοποιεί τόσο τη NADPH όσο και τη NADH ως υποστρώματα, με την τελευταία να συνθέτει περισσότερο υπεροξειδικό ανιόν σε αντίθεση με τα φαγοκύτταρα που χρησιμοποιούν περισσότερο τη NADPH (30).

Η διέγερση των μακροφάγων οδηγεί, επίσης, στην παραγωγή οξειδωτικών ριζών. Η διαδικασία αυτή που ονομάζεται «αναπνευστική έκρηξη» προκαλείται από την παροδική υπερκατανάλωση οξυγόνου και τη διέγερση της αναχθείσης μορφής της οξειδάσης της NADPH. Οι οξειδωτικές ρίζες προκαλούν την οξείδωση των LDL προς oxLDL και τη διέγερση των προφλεγμονωδών βιοχημικών δρόμων των μεταγραφικών παραγόντων NF-κΒ και AP-1. Ως εκ τούτου, οι οξειδωτικές ρίζες συμβάλλουν στη φλεγμονώδη αντίδραση των μακροφάγων προάγοντας τη σύνθεση φλεγμονογόνων κυταροκινών (4).

Έχει διαπιστωθεί ότι η διέγερση των υποδοχέων PPARγ από ουσίες που απελευθερώνουν NO ή συνθετικούς αγωνιστές εξασθενεί την αναπνευστική έκρηξη. Αυτό οφείλεται στην καταστολή της υπομονάδας p47phox της οξειδάσης της NADPH που σχετίζεται με την παραγωγή των οξειδωτικών ριζών (4).

Έχει επίσης διαπιστωθεί ότι οι oxLDLs από τη μία πλευρά διεγείρουν την παραγωγή των οξειδωτικών ριζών και από την άλλη διεγείρουν τους υποδοχείς PPAR $\gamma$  οι οποίοι, με τη σειρά τους, απευαισθητοποιούν τα μακροφάγα με αποτέλεσμα να ελαττώνεται η σύνθεση των ριζών αυτών. Αντίθετα, η διέγερση των υποδοχέων PPAR $\alpha$  αυξάνει την παραγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου και αυτό οφείλεται εν μέρει στο ότι προάγεται η έκφραση του γονιδίου που κωδικοποιεί την υπομονάδα p47rhox της οξειδάσης της NADPH. Από την άλλη, έχει διαπιστωθεί ότι υποδοχείς-PPAR $\alpha$  διεγείρουν τη δράση γονιδίων που κωδικοποιούν τη σύνθεση αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως η καταλάση και η υπεροξειδική δισμουτάση. Τα ένζυμα αυτά προστατεύουν τους ιστούς και τις λιποπρωτεΐνες από τη δράση των οξειδωτικών ριζών που αφθονούν και στα μακροφάγα (2,3,7,32).

Ως εκ τούτου, ο ρόλος των υποδοχέων PPARs σε σχέση με την παραγωγή των οξειδωτικών ριζών και τις επιπτώσεις που μπορεί να έχει αυτός ως προς την εξέλιξη της αθηρωμάτωσης παραμένει προς το παρόν εν πολλοίς αδιευκρίνιστος, φαίνεται πάντως ότι σχετίζεται με τη χαλιναγώγηση, σε δεύτερο στάδιο, της αναπνευστικής έκρηξης, αφού επιτελεσθεί ο αρχικός σκοπός της.

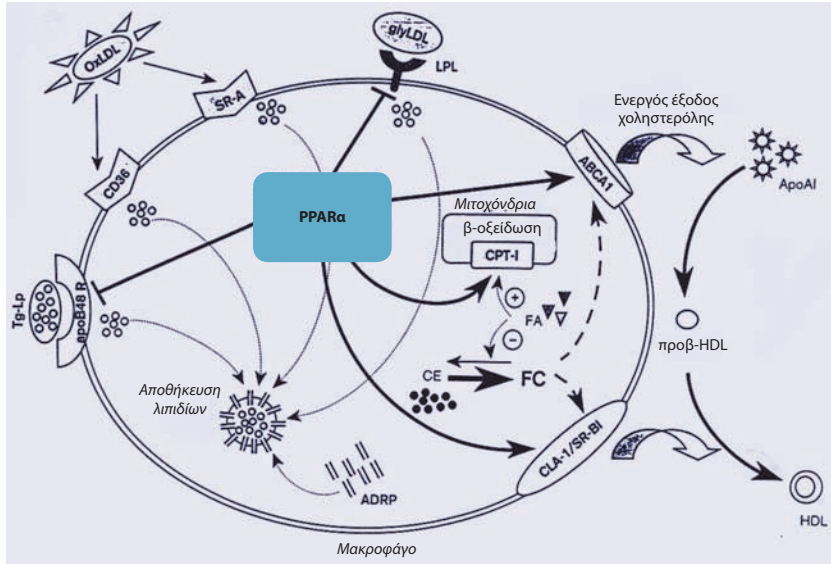
### **Υποδοχείς PPARs και αφρώδη κύτταρα**

Τη στράτευση των μονοκυττάρων και την είσοδό τους στην υποενδοθηλιακή στιβάδα, ακολουθεί ο πολλαπλασιασμός τους και η διαφοροποίησή τους προς μακροφάγα. Η συσσώρευση των οξειδωμένων λιπιδίων εντός των μακροφάγων αυτών τα μετατρέπει σε αφρώδη κύτταρα. Ο θάνατος των αφρωδών κυττάρων οδηγεί στο σχηματισμό νεκρωτικών πυρήνων.

Τα αφρώδη κύτταρα χαρακτηρίζονται από τη συσσώρευση στο κυτταρόπλασμα εστέρων της χοληστερόλης και σταγονιδίων πλούσιων σε τριγλυκερίδια. Οι ενέργειες των υποδοχέων PPARs στο μεταβολισμό των λιπιδίων στο αίμα και στο ισοζύγιο των τελευταίων στο επίπεδο των μακροφάγων, για τις οποίες έχει ήδη γίνει σχετική αναφορά, επηρεάζουν κατ'επέκταση το ρυθμό και την ποσότητα σχηματισμού των αφρωδών κυττάρων.

Η τροποποίηση της έκφρασης γονιδίων που κωδικοποιούν απολιποπρωτεΐνες και ένζυμα που έχουν σχέση με τη σύνθεση ή τη μεταφορά των λιπιδίων από τους υποδοχείς PPARs έχει ως αποτέλεσμα να επηρεάζονται τα επίπεδα των λιπιδίων στο αίμα. Οι υποδοχείς PPAR $\alpha$  στοχεύουν γονίδια που κωδικοποιούν την apoCIII και τη λιποπρωτεϊνική λιπάση (LPL), από τη δράση των οποίων επηρεάζονται τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων του αίματος, και τα γονίδια που κωδικοποιούν την apoA-I και το μεταφορέα ABCA1, από τη δράση των οποίων επηρεάζονται τα επίπεδα της HDL του αίματος (10).

(a)



### Εικόνα 7.14: Υποδοχείς PPARs και λιπιδικός μεταβολισμός των μακροφάγων.

**(α)** Η διέγερση του υποδοχέα PPAR $\alpha$  οδηγεί στην ελάττωση της συσσώρευσης της γλυκοζυλιωμένης LDL (glyLDL) και των λιποπρωτεϊνών που είναι πλούσιες σε τριγλυκερίδια (Tg-Lp) μέσω της αναστολής της δράσης της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης (LP) και της βιοχημικής οδού που κινητοποιείται από τον απολιποπρωτεϊνικό υποδοχέα B48 (apoB48R) αντίστοιχα. Επίσης, η διέγερση του υποδοχέα PPAR $\alpha$  οδηγεί σε ελάττωση των επιπέδων των χοληστερικών εστέρων (CE), διότι προάγει την αυξημένη γονιδιακή έκφραση της καρνιτινο-παλμιτοϋλοτρανσφεράσης (CPT-1), ενζύμου το οποίο ευρίσκεται στην εξωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων. Το ένζυμο αυτό προάγει την  $\beta$ -οξειδωση των λιπαρών οξέων (FA) ελαττώνοντας τα επίπεδά τους στο αίμα και ως εκ τούτου τη δυνατότητα να ενσωματώνονται στην ελεύθερη χοληστερόλη (FC). Τέλος, η διέγερση του υποδοχέα PPAR $\alpha$  ρυθμίζει θετικά την αντίστροφη μεταφορά χοληστερόλης διεγείροντας τη γονιδιακή έκφραση των μεταφορέων ABCA1 και των υποδοχέων αποκομιδής CD36 και CLA-1/SR-B1.

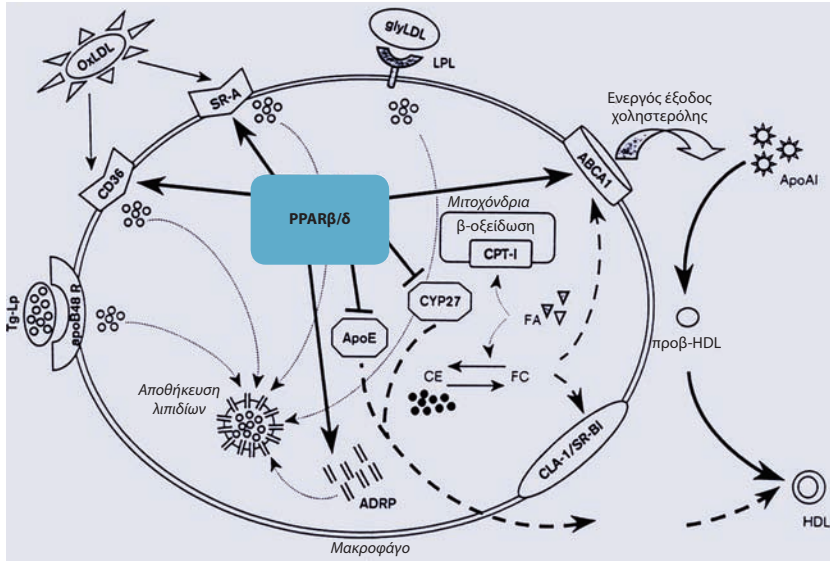
**(β)** Η διέγερση του υποδοχέα PPAR $\beta/\delta$  ελέγχει τη συσσώρευση των λιπιδίων διεγείροντας τη γονιδιακή έκφραση των υποδοχέων αποκομιδής CD36 και SR-A. Επίσης προάγει την έκφραση του γονιδίου ADRP που κωδικοποιεί στοιχεία που καλύπτουν τους ενδοκυτταρικούς λιπιδικούς σχηματισμούς. Ακόμη η διέγερση του υποδοχέα PPAR $\beta/\delta$  προάγει την ενεργητική έξοδο της χοληστερόλης, γιατί διεγείρει την έκφραση του μεταφορέα ABCA1, πλην όμως αναστέλλει την παθητική έξοδο της ίδιας ουσίας, γιατί καταστέλλει την έκφραση της apoE και της 27-υδροξυλάσης της χοληστερόλης.

**(γ)** Η διέγερση του υποδοχέα PPAR $\gamma$  προάγει τη γονιδιακή έκφραση του υποδοχέα αποκομιδής CD36 που συσσωρεύει λιπίδια και καταστέλλει την έκφραση του υποδοχέα αποκομιδής SR-A. Επίσης, ελαττώνει την πρόσληψη της glyLDL και των Tg-Lp, διότι ελαττώνει την έκκριση και την ενεργότητα της LP και την έκφραση του υποδοχέα apoB48R. Τέλος, η διέγερση του υποδοχέα PPAR $\gamma$  ελαττώνει τα ποσά των CE στα μακροφάγα διεγείροντας τη γονιδιακή έκφραση των μεταφορέων ABCA1 και των υποδοχέων αποκομιδής CLA-1/SR-B1.

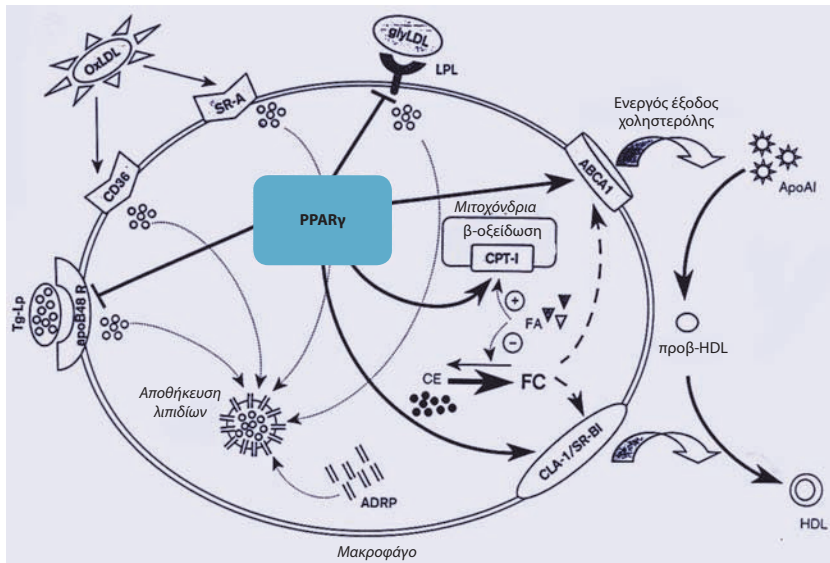
*Cur. Opin. Lipidol* 14 (2003)



(β)



(γ)



Έχει επίσης διαπιστωθεί ότι η διέγερση των υποδοχέων PPAR $\alpha$  και PPAR $\gamma$  στα μακροφάγα και στα αφρώδη κύτταρα του ανθρώπου προκαλεί την ελάττωση των επιπέδων των εστέρων της χοληστερόλης σε αυτά. Έχει διαπιστωθεί ότι ο υποδοχέας PPAR $\alpha$  αυξάνει την έκφραση του γονιδίου που κωδικοποιεί το ένζυμο CPT-I, με αποτέλεσμα να επιτείνεται η  $\beta$ -οξειδωση των λιπαρών οξέων στα μιτοχόνδρια. Η ελάττωση στο κυτταρόπλασμα των λιπαρών οξέων που χρησιμεύουν ως υπόστρωμα για το συνένζυμο A: χοληστερολοτρανσφεράση 1, οδηγεί σε μειωμένη σύνθεση εστέρων της χοληστερόλης στα μακροφάγα. Επίσης το γονίδιο που κωδικοποιεί το ένζυμο υδρολάση των εστέρων της χοληστερόλης αποτελεί στόχο των υποδοχέων PPAR $\alpha$  και PPAR $\gamma$ . Το ένζυμο αυτό υδρολύει τους εστέρες αυτούς στα αφρώδη κύτταρα (4).

Η πρόσληψη των oxLDL από τα μακροφάγα ενεργοποιεί τον υποδοχέα PPAR $\gamma$ , γεγονός που προάγει την έκφραση των υποδοχέων αποκομιδής CD36 και των υποδοχέων LXRA (Liver X Receptor  $\alpha$ ) και ελαττώνει την έκφραση των υποδοχέων αποκομιδής SR-A. Παράλληλα, οι οξυστερόλες διεγείρουν τους υποδοχείς LXRA οι οποίοι, με τη σειρά τους, διεγείρουν την έκφραση των ABCA1. Οι τελευταίοι μεταφέρουν τη χοληστερόλη στους αποδέκτες της, δηλαδή στην apoA-I και στη συνέχεια στην HDL (1-3,33).

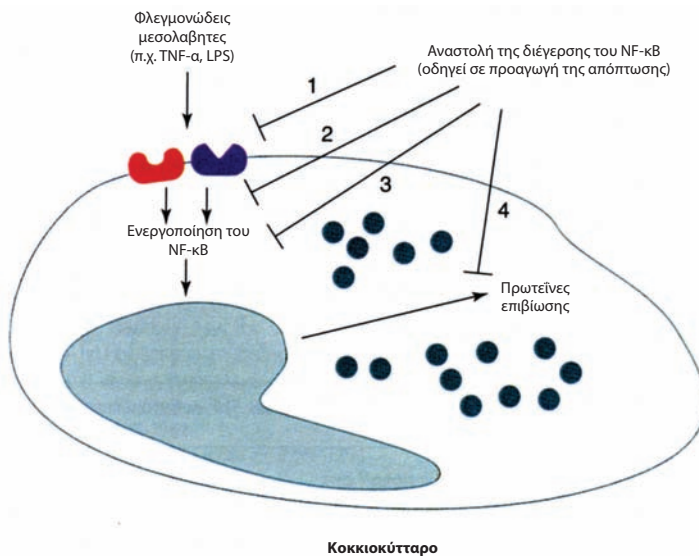
Η συνέχιση του κύκλου αυτού οδηγεί δυνητικά σε αναστολή της πρόσληψης των oxLDL. Αυτό όμως δεν συμβαίνει πάντα. Όπως ήδη αναφέρθηκε, στοιχεία λιπαρών οξέων που έχουν προσληφεί με τις LDL-ox μέσω των υποδοχέων-CD36, που είναι υποδοχείς-αποκομιδής Β' τάξης, διεγείρουν εκ νέου τους πυρηνικούς υποδοχείς- PPAR $\gamma$ . Η διέγερση των υποδοχέων αυτών οδηγεί σε αύξηση της έκφρασης του γονιδίου-CD36 με αποτέλεσμα την περαιτέρω πρόσληψη των LDL-ox και την εκ νέου διέγερση των υποδοχέων PPAR $\gamma$  και αυτό θεωρείται ως ένας θετικός αυτορρυθμιζόμενος κύκλος. Παράλληλα, η διέγερση των υποδοχέων PPAR $\gamma$  δρα ανασταλτικά στους βιοχημικούς δρόμους που μεθοδεύονται αφένος από τον ενδοπυρηνικό παράγοντα μεταγραφής NF- $\kappa$ B που κινητοποιεί αντιαποπρωτικούς μηχανισμούς, αφετέρου από τον παράγοντα μεταγραφής AP-1, με αποτέλεσμα να επέρχεται η υποβάθμιση των υποδοχέων αποκομιδής Α τάξης. Οι υποδοχείς αυτοί είναι κύρια υπαίτιοι για την πρόσληψη των οξειδωμένων λιποπρωτεϊνών και πιστεύεται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό των αφρωδών κυττάρων (1).

Τελικά το αν τα μακροφάγα θα μεταπέσουν ή όχι σε αφρώδη κύτταρα υπό την επίδραση των oxLDL ή θα οδηγηθούν σε αποπρωτικό θάνατο υπό την επίδραση των υποδοχέων PPAR $\gamma$  εξαρτάται από τα βιοχημικά σήματα που ενεργοποιούνται στα κύτταρα αυτά (1).

### Υποδοχείς PPARs και απόπτωση

Έχει διαπιστωθεί ότι η απόπτωση των διαφόρων κυττάρων συνοδεύεται από οξείδωση των φωσφολιπιδίων από τις οξειδωτικές ρίζες που παράγονται με τη δράση της οξειδάσης NADPH. Η εξωτερίκευση των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων είναι απαραίτητη για να προκληθεί η κάθαρση των αποπτωτικών κυττάρων από τα μακροφάγα. Τα επιτόπια των οξειδωμένων φωσφολιπιδίων αναγνωρίζονται όχι μόνο από ειδικά αντισώματα αλλά και από την CRP. Επίσης, μεμβρανικά τμήματα των αποπτωτικών κυττάρων που περιέχουν βιολογικά δραστικά οξειδωμένα φωσφολιπιδία διεγείρουν τα ενδοθηλιακά κύτταρα στο να συνδεθούν με τα μονοκύτταρα. Ως εκ τούτου, τα αποπτωτικά κύτταρα συνιστούν μία επιπρόσθετη πηγή οξειδωμένων φωσφολιπιδίων και συμβάλλουν στην ανάπτυξη των φλεγμονωδών φαινομένων (4).

Αλλά και τα ίδια τα μακροφάγα που έχουν μεταπέσει σε αφρώδη κύτταρα χάνονται εν μέρει, όπως ήδη αναφέρθηκε, με αποπτωτικό θάνατο. Ο νεκρωτικός αλλά και ο αποπτωτικός θάνατος των αφρωδών κυττάρων αφή-



**Εικόνα 7.15: Ο ρόλος του μεταγραφικού παράγοντα NF-κΒ στην απόπτωση των κοκκιοκυττάρων.** Ο παράγοντας NF-κΒ δρα ανασταλτικά στην απόπτωση των κυττάρων αυτών, την οποία προάγουν διάφοροι φλεγμονογόνοι μεσολαβητές όπως η κυτταροκίνη TNF-α και οι λιπολυσακχαρίδες των μικροβίων (LPS: Lipopolysaccharides). Οι παράγοντες αυτοί ενεργοποιούν τον NF-κΒ. Τα σημεία στόχοι με τα οποία μπορεί να ανασταλεί η δράση του NF-κΒ και να επιτευχθεί η απόπτωση είναι: 1<sup>ο</sup> Μπλοκάρισμα των υποδοχέων των μεσολαβητών, όπως του TNF-α και των LPS στην κυτταρική μεμβράνη. 2<sup>ο</sup> Αναστολή των σηματοδοτούντων βιοχημικών οδών. 3<sup>ο</sup> Άμεση παρεμβολή στο επίπεδο του NF-κΒ. 4<sup>ο</sup> Αναστολή της σύνθεσης ή των ενεργειών των πρωτεϊνών επιβίωσης, τη μεταγραφή των οποίων προάγει ο NF-κΒ.

*Trends Pharmacol. Sci.* 20 (1999)

νει κενούς λιπιδικούς πυρήνες ή νεκρωτικές εστίες στην περιοχή της αθηρωματικής βλάβης, φαινόμενα που προάγουν τη ρήξη της αθηρωματικής πλάκας (6).

Οι ίδιοι πυρηνικοί υποδοχείς-PPAR $\gamma$  δρουν, όπως ήδη αναφέρθηκε, επίσης ανασταλτικά στη βιοχημική οδό του ενδοπυρηνικού παράγοντα μεταγραφής NF- $\kappa$ B ο οποίος, με τη σειρά του, δρα ανασταλτικά στους αποπτωτικούς μηχανισμούς. Η ανασταλτική αυτή δράση ασκείται στην p65/RelA υπομονάδα του NF- $\kappa$ B παράγοντα. Το αποτέλεσμα είναι η προαγωγή της απόπτωσης του μακροφάγου και η ελάττωση των φλεγμονωδών φαινομένων (7,15).

### **ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΕΣ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΩΝ ΠΑΡΕΜΒΑΣΕΩΝ**

Μέχρι σήμερα έχει διαπιστωθεί η ύπαρξη αρκετών ουσιών που είναι σε θέση να ενωθούν και να διεγείρουν τους υποδοχείς-PPARs. Τα μεταβολικά προϊόντα των λιπαρών οξέων, όπως είναι το 8 (S) υδροξυεικοσατετραενοϊκό οξύ, το 8 (S) υδροξυεικοσαπενταενοϊκό οξύ και η λευκοτριένη B<sub>4</sub>, είναι ενδογενείς αγωνιστές των υποδοχέων-PPAR $\alpha$ . Η 15-δεοξυ- $\Delta$ -προσταγλανδίνη J<sub>2</sub> είναι αντίστοιχα ενδογενής αγωνιστής των υποδοχέων-PPAR $\gamma$ . Το ίδιο ισχύει και για τα στοιχεία των ox-LDL, όπως το 9-υδροξυοκταδεκαδιενοϊκό οξύ και 13-υδροξυοκταδεκαδιενοϊκό οξύ (7, 34-38).

Φάρμακα που χρησιμοποιούνται σήμερα είτε ως αντιλιπιδαιμικά είτε ως αντιδιαβητικά έχει διαπιστωθεί ότι ασκούν τη δράση τους διεγείροντας τους υποδοχείς αυτούς, ενώ συγχρόνως παρουσιάζουν αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες.

Δύο κατηγορίες φαρμάκων, οι φιβράτες και οι γλιταζόνες, ενεργοποιούν τους υποδοχείς PPAR $\alpha$  και PPAR $\gamma$  αντίστοιχα. Οι αγωνιστές των υποδοχέων αυτών, γενικά, αναστέλλουν τις φλεγμονώδεις αντιδράσεις στο αγγειακό τοίχωμα, αναστέλλουν τη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων του αγγειακού τοιχώματος και επηρεάζουν αρνητικά το σχηματισμό των αφρωδών κυττάρων, μεταβάλλοντας την έκφραση των υποδοχέων αποκομιδής (10, 39-41).

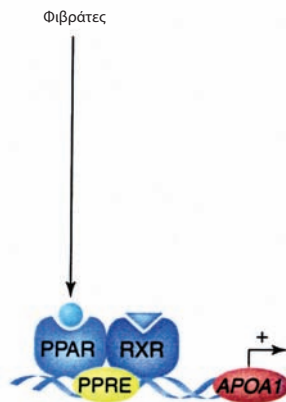
### **Οι φιβράτες**

Οι φιβράτες αποτελούν μία σημαντική κατηγορία υπολιπιδαιμικών φαρμάκων. Χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία της υπερτριγλυκεριδαϊμίας και των μικτών υπερλιπιδαιμιών, η δε χορήγησή τους ελαττώνει την πρόοδο της στεφανιαίας αθηρωμάτωσης στον άνθρωπο (1,10,41).

Οι φιβράτες ελαττώνουν τα τριγλυκερίδια του πλάσματος μειώνοντας

την ηπατική τους σύνθεση και αυξάνοντας τον καταβολισμό τους. Ο καταβολισμός των τριγλυκεριδίων προκύπτει από τη διέγερση της μεταγραφής του γονιδίου που κωδικοποιεί τη λιποπρωτεϊνική λιπάση (LPL). Παράλληλα δρουν ανασταλτικά στην έκφραση του γονιδίου που κωδικοποιεί την apoC-III. Με τον τρόπο αυτό αυξάνεται ο βαθμός λιπόλυσης και η μέσω υποδοχέων κάθαρση των VLDL. Επιπλέον, οι φιβράτες αυξάνουν την HDL χοληστερόλη, διεγείροντας τη μεταγραφή του γονιδίου των apoA-I και apoA-II. Όλες αυτές οι βιομοριακές δράσεις των φαρμάκων αυτών οφείλονται εξ ολοκλήρου στην ικανότητά τους να ενεργοποιούν τους υποδοχείς PPARα (1,42-44).

Τέλος, πρόσφατες μελέτες απέδειξαν ότι η χρήση φιβρατών προκαλεί μείωση της συγκέντρωσης της ιντερλευκίνης-6 στο πλάσμα ασθενών με αθηροσκλήρωση αναστέλλοντας, όπως διαπιστώθηκε, την έκκρισή της από τα λεία μυϊκά κύτταρα της αορτής. Η ιντερλευκίνη-6 είναι μια φλεγμονογόνος κυτταροκίνη, τα επίπεδα της οποίας ευρίσκονται αυξημένα στις αθηρωματώδεις καταστάσεις (45).



**Εικόνα 7.16:** Σχηματική παράσταση του μηχανισμού με τον οποίο οι φιβράτες διεγείρουν τη γονιδιακή έκφραση της apoA1.

*Trends Pharmacol. Sci. 24 (2003)*

### Οι γλιταζόνες

Οι γλιταζόνες αποτελούν μία κατηγορία φαρμάκων που χρησιμοποιείται σήμερα για τη θεραπεία ασθενών με διαβήτη και κυρίως ασθενών με αντίσταση στην ινσουλίνη. Μεταξύ άλλων, έχει διαπιστωθεί στον άνθρωπο ότι οι γλιταζόνες αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών ινών του

τοιχώματος των καρωτίδων και ελαττώνουν το πάχος του έσω και έξω χιτώνα των αγγείων αυτών (46,47).

Οι γλιταζόνες είναι αγωνιστές των υποδοχέων PPAR $\alpha$ , εκτός όμως της γνωστής τους υπογλυκαιμικής δράσης φαίνεται να εκδηλώνουν και αντιφλεγμονώδη δράση. Σε μελέτες που έγιναν αποδείχθηκε ότι με τη χρήση πιογλιταζόνης, ενός εκπροσώπου της κατηγορίας αυτής των φαρμάκων, παρατηρήθηκε μείωση του αριθμού των μακροφάγων στην περιοχή του εμφράκτου καθώς και μείωση του μεγέθους του μυοκαρδιακού εμφράκτου, σε σχέση με τη μη χρήση της. Το αποτέλεσμα αυτό οφείλεται στη μείωση των επιπέδων των συγκεντρώσεων ορισμένων χημειοτακτικών παραγόντων και παραγόντων προσκόλλησης (MCP-1) των μονοκυττάρων και των μακροφάγων που παρατηρήθηκε στην ισχαιμική περιοχή (40,46-49).

Άλλες μελέτες που έγιναν με τη χρήση ροσιγλιταζόνης έδειξαν, επίσης, ότι οι γλιταζόνες εμφανίζουν σημαντική αντιφλεγμονώδη δράση, αφού παρατηρήθηκε μείωση της συγκέντρωσης της ιντερλευκίνης-1, της ιντερλευκίνης-6, του παράγοντα von Willebrand, της πρωτεΐνης CRP και του ινωδογόνου. Η ροσιγλιταζόνη, λοιπόν, μείωσε σημαντικά τους δείκτες ενεργοποίησης των ενδοθηλιακών κυττάρων, καθώς και τα επίπεδα των δεικτών της οξείας φάσης φλεγμονής (49-51).

### **Οι στατίνες**

Μία άλλη κατηγορία φαρμάκων που χρησιμοποιείται ευρέως για τη θεραπεία ασθενών με αμιγή υπερχοληστερολαιμία και με μικτές δυσλιπιδαιμίες είναι οι στατίνες. Οι στατίνες δρουν αναστέλλοντας την HMG-CoA αναγωγή, ένα ένζυμο που ρυθμίζει την ενδοκυτταρική σύνθεση της χοληστερόλης. Τοιουτοτρόπως, τα επίπεδα της χοληστερόλης μειώνονται, γεγονός που οδηγεί στην ενεργοποίηση ενός παράγοντα μεταγραφής SREBP2 (Sterol Regulatory Element- Binding Protein-2: Δεσμεική πρωτεΐνη του ρυθμιστικού στοιχείου των στερολών), ο οποίος με τη σειρά του ενεργοποιεί το γονίδιο που είναι υπεύθυνο για τη σύνθεση των υποδοχέων LDL. Έτσι, τελικά αυξάνεται ο αριθμός των υποδοχέων LDL και μειώνεται η LDL χοληστερόλη του πλάσματος. Η μείωση της LDL χοληστερόλης, έχει μεταξύ άλλων, ως συνέπεια τη σταθεροποίηση της αθηρωματικής πλάκας με ταυτόχρονη μείωση της φλεγμονώδους διαδικασίας. Εκτός από τη μείωση της LDL χοληστερόλης, η χρήση στατινών προκαλεί αύξηση των επιπέδων της HDL καθώς και της apoA-1 (40,42,51,53).

Οι στατίνες ασκούν, ανεξάρτητα από την αντιλιπιδαιμική τους δράση, ευνοϊκές δράσεις στο αγγειακό τοίχωμα. Ελαττώνουν την πρόοδο της φλεγμονής, αυξάνουν τη σύνθεση του NO από τα ενδοθηλιακά κύτταρα προάγοντας τη γονιδιακή έκφραση της συνθετάσης του NO, ελαττώνουν τη σύνθεση της ενδοθηλίνης-1 και δρουν ανασταλτικά στην εξέλιξη της θρόμβωσης.

Επίσης προάγουν την κυτταρική απόπτωση, αναστέλλουν την πρόοδο του κυτταρικού κύκλου και ελαττώνουν τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών ινών. Οι αναστελλόμενες αυτές λειτουργίες εξαρτώνται από το μεβαλονικό οξύ. Πρόκειται για το προϊόν της ενζυμικής δράσης της HMG-CoA αναγωγάσης, τη δράση της οποίας αναστέλλουν, όπως αναφέρθηκε, οι στατίνες. Το προϊόν αυτό χρησιμεύει ως πρόδρομη ουσία για πολλούς ισοπρενοειδείς μεταβολίτες περιλαμβάνεται και η σκουαλένη. Επίσης, οι στατίνες ελαττώνουν τη γονιδιακή έκφραση των μεταλλοπρωτεϊνών (MMPs) που ευθύνονται για τη διάσπαση των συστατικών στοιχείων της αθηρωματικής πλάκας όπως είναι το κολλαγόνο, η ελαστίνη, η φιβρονεκτίνη και οι πρωτεογλυκάνες. Οι MMPs εκφράζονται από τα κύτταρα που ευρίσκονται στην αθηρωματική πλάκα, όπως τα ενδοθηλιακά, τα μακροφάγα και οι λείες μυϊκές ίνες, όχι όμως και από τα κύτταρα που ευρίσκονται στα τοιχώματα των φυσιολογικών αρτηριών. Τα φορτωμένα με λιπίδια μακροφάγα και τα συρρέοντα T-λεμφοκύτταρα είναι εκείνα που διεγείρουν τα γειτονικά τους κύτταρα στο να διαβρώσουν τα συστατικά της αθηρωματικής πλάκας. Τέλος, οι στατίνες ασκούν αντιοξειδωτική δράση ελαττώνοντας στις λείες μυϊκές ίνες τη γονιδιακή έκφραση βασικών υπομονάδων της οξειδάσης NAD(P)H, ενώ παράλληλα αυξάνουν την αντίστοιχη της καταλάσης. Συγχρόνως ελαττώνουν τη συσσώρευση της χοληστερόλης στα μακροφάγα εμποδίζοντας την ενδοκύτωση της mmLDL (31,54).

Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι υπάρχει κάποιος συσχετισμός μεταξύ της οδού της HMG-CoA αναγωγάσης και της οδού των PPARα υποδοχέων. Συγκεκριμένα, αποδείχτηκε ότι οι στατίνες προάγουν τη δραστηριότητα μιας περιοχής του DNA που ελέγχει την έκφραση του υπεύθυνου γονιδίου για τη σύνθεση της apoA-1. Αυτή ακριβώς η ενέργεια πραγματοποιείται μέσω της ενεργοποίησης των υποδοχέων PPAR, η οποία συμβαίνει κατόπιν της αναστολής της παραγωγής της GGpp (geranygeranyl pyrophosphate), μεταβολίτη της HMG-CoA αναγωγάσης (41,51,52,53).

Υπάρχουν ακόμη αναφορές ότι οι στατίνες ενεργοποιούν ένα R.E. το οποίο συμπίπτει με το αντίστοιχο γονιδιακό R.E. που συνδέεται με τους υποδοχείς PPARα και το οποίο έχει σχέση με την ανταπόκριση του γονιδίου αυτού στις φιβράτες. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι οι αναστολείς της HMG-CoA αναγωγάσης σεριβαστατίνη, φλουβαστατίνη και πιταβαστατίνη μπορεί να μην ήταν αγωνιστές καμίας από τις κατηγορίες των υποδοχέων PPAR, προκάλεσαν όμως την ενεργοποίηση της μεταγραφής των PPARα/RXRα, PPARδ/RXRα και PPARγ/RXRα. Οι RXR είναι πυρηνικοί υποδοχείς και λειτουργούν ως ετεροδιμερές σύμπλοκο με τους PPARs όπως έχει ήδη αναφερθεί, και ο λειτουργικός ρόλος τους στο σύμπλοκο αυτό δεν είναι ξεκαθαρισμένος (53,55).

Οι στατίνες, όμως, διαθέτουν και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες ανεξάρτητες της αντιλιπιδικής δράσης τους. Ο μηχανισμός τους βασίζεται στην ανασταλτική δράση την οποία ασκούν στην CRP. Έχει διαπιστωθεί ότι με τη χρήση των στατινών προκαλείται σημαντική μείωση της πρωτεΐνης αυτής, χωρίς να παρατηρηθεί κάποια άλλη επίδραση στους υπόλοιπους δείκτες της οξείας φάσης της φλεγμονής (2,56,57).

Η CRP είναι μια πρωτεΐνη του πλάσματος η οποία συμμετέχει στην ανοσιακή απόκριση. Συνδέεται κατά ασβεστιοεξαρτώμενο τρόπο με το τμήμα PC του μικροβιακού τοιχώματος και προάγει την κάθαρση από τους μικροοργανισμούς που πραγματοποιεί με τη φαγοκυττάρωση που μεθοδεύεται από τους υποδοχείς Fcγ και την ενεργοποίηση του συμπληρώματος. Ανευρίσκεται δε όχι μόνο σε διάφορα λοιμώδη νοσήματα αλλά και σε μη λοιμώδεις φλεγμονώδεις καταστάσεις. Πιστευεται ότι η CRP, η οποία ήταν γνωστό εδώ και πολλά χρόνια ότι συνδέεται με τις λιποπρωτεΐνες του πλάσματος, συνδέεται με το συμπλήρωμα στις αθηρωματικές πλάκες και το ενεργοποιεί. Πειραματικά δεδομένα παρέχουν ενδείξεις ότι το συμπλήρωμα έχει ρόλο στην εξέλιξη της αθηρωμάτωσης. Είναι γνωστό ότι μέτρια αυξημένα επίπεδα της CRP προβλέπουν το επερχόμενο έμφραγμα του μυοκαρδίου, την περιφερειακή αρτηριακή νόσο και τον αιφνίδιο θάνατο. Σήμερα είναι παραδεκτό ότι η CRP δεν είναι μόνο ένας δείκτης της φλεγμονής που συνυπάρχει με την αθηρωμάτωση, αλλά ότι μπορεί να διαμορφώνει το σχηματισμό και την πρόοδο της αθηρωματικής βλάβης. Ως εκ τούτου, η CRP σηματοδοτεί τη συστηματική φλεγμονή και προβλέπει μελλοντικό καρδιαγγειακό κίνδυνο (57).

Έρευνες που διεξήχθησαν πρόσφατα απέδειξαν ότι η χρήση στατινών προκαλεί μείωση της έκφρασης του υποδοχέα CD40 καθώς και μείωση της ενεργοποίησης που σχετίζεται με τον υποδοχέα CD40 των αγγειακών κυττάρων. Ο υποδοχέας CD40 είναι μέλος της οικογένειας των υποδοχέων του TNF (Tumor Necrosis Factor). Αυτές οι επιδράσεις μεθοδεύονται από βιοχημικές οδούς που έχουν σχέση με τους υποδοχείς PPARs και με τη συνθετάση του NO (58).

### **Οι αποκλειστές των διαύλων του $Ca^{2+}$**

Οι αποκλειστές των διαύλων L του  $Ca^{2+}$  προάγουν την αυξημένη σύνθεση και απελευθέρωση του NO από τα ενδοθηλιακά κύτταρα με μηχανισμό που δεν έχει σχέση με τη γνωστή δράση τους ως αποκλειστών των διαύλων του  $Ca^{2+}$ , δεδομένου ότι τα κύτταρα αυτά δεν διαθέτουν τους διαύλους αυτούς. Η δράση αυτή δεν φαίνεται να ασκείται ούτε με επίδραση στη γονιδιακή έκφραση της συνθετάσης του NO. Ο πιθανότερος μηχανισμός είναι μία αντιοξειδωτική δράση των παραγώγων αυτών τα οποία δρουν ως ουσίες που δεσμεύουν τις EOP Η δράση αυτή αυξάνει τη διαθεσιμότητα του NO. Η αύξηση



του NO οδηγεί στην αγγειοδιαστολή και στη βελτίωση της κυκλοφορίας και συμβάλλει στην αντιθρομβωτική, αντιπολλαπλασιαστική και αντιαθηρωματική δράση των φαρμάκων αυτών. Δευτερεύων μηχανισμός με όμοια αποτελέσματα σχετίζεται με τη διέγερση υποδοχέων της αδενοσίνης (59).

### **Φάρμακα που ανταγωνίζονται την αγγειοτασίνη II**

Η λεπτεπίλεπτη ισορροπία που αφορά τη σταθερότητα της αθηρωματικής πλάκας εξαρτάται από τη μία πλευρά από ενδογενείς ιστικούς παράγοντες και από την άλλη από εξωγενείς δυνάμεις όπως οι μηχανικές δράσεις του κυκλοφορούντος αίματος και οι τοπικά σχηματιζόμενοι αγγειοσυσπαστικοί παράγοντες όπως η αγγειοτασίνη II.

Οι αναστολείς του Μ.Ε.Α. είναι γνωστό ότι αναστέλλουν τη μετατροπή της αδρανούς αγγειοτασίνης I προς την ισχυρά αγγειοσυσπαστική αγγειοτασίνη II, ουσία που μακροπρόθεσμα δρα και ως αυξητικός παράγοντας, και αποτρέπουν τη διάσπαση της αγγειοδιασταλτικής βραδυκινίνης. Παράλληλα, τα φάρμακα αυτά αυξάνουν τα επιπέδα της αγγειοτασίνης (1-7) των ιστών και του πλάσματος με επιπλέον ευνοϊκές καρδιακές και αγγειακές δράσεις. Τα ίδια φάρμακα μπορούν να δράσουν ευνοϊκά στην ινωδολυτική ισορροπία ελαττώνοντας τη σύνθεση του PAI-1 μέσω της αγγειοτασίνης IV ή ελατώνοντας τη δράση της αγγειοτασίνης II στους υποδοχείς  $AT_4$ . Πιστεύεται ότι ο αποκλεισμός του Μ.Ε.Α. με φάρμακα θα προφυλάξει από τη ρήξη της αθηρωματικής πλάκας και τη θρόμβωση τους ασθενείς με ασταθή στηθάγχη. Η πίστη αυτή στηρίζεται στο γεγονός ότι το ιστικό Μ.Ε.Α. εκφράζεται έντονα στις αθηρωματικές πλάκες του ανθρώπου εντοπιζόμενο ιδιαίτερα σε περιοχές όπου υπάρχουν συμπλέγματα των μακροφάγων και όπου είναι ιδιαίτερα αυξημένο. Σημαντικό, επίσης, ρόλο παίζει η αναστολή παραγωγής EOP υπό την επίδραση της αγγειοτασίνης II (60).

Όσον αφορά τους αποκλειστές των υποδοχέων  $AT_1$  της αγγειοτασίνης II, αυτοί είναι πιο αποτελεσματικοί από τους αναστολείς του Μ.Ε.Α. διότι οι τελευταίοι δεν μπορούν να αναστείλουν άλλα βιοχημικά μονοπάτια σύνθεσης της αγγειοτασίνης II όπως της χυμάσης, της καθεψίνης G και της τονίνης. Επίσης, με τον αποκλεισμό των υποδοχέων  $AT_1$  διεγείρονται πλέον οι υποδοχείς  $AT_2$  που κινητοποιούν αντιπολλαπλασιαστικούς, προαποπτωτικούς και αγγειοδιασταλτικούς μηχανισμούς. Νεότερα δεδομένα αποδεικνύουν ότι τα φάρμακα αυτά έχουν αντιαιμοπεταλιακές και αντιφλεγμονώδεις δράσεις (60,61).

### **Φάρμακα που αποδίδουν NO**

Όπως είναι γνωστό, το NO δεν είναι μόνο μια αγγειοδιασταλτική ουσία αλλά ασκεί και πολλές άλλες ενέργειες, καθώς σε κυτταρικό επίπεδο ενώνεται με το σίδηρο στην ομάδα της αίμης της γουανυλοκυκλάσης (GC) και διεγείρει

την παραγωγή της cGMP (cyclic Guanosine Monophosphate) πυροδοτώντας έναν καταρράκτη κυτταρικών αντιδράσεων. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται η αναστολή της συγκόλλησης των αιμοπεταλίων και της προσκόλλησης των λευκοκυττάρων, η διατήρηση της στεγανότητας του αγγειακού τοιχώματος, η διέγερση και η προαγωγή της αγγειογένεσης, η παραγωγή των EOP και η απελευθέρωση προστανοειδών κατά το έμφραγμα του μυοκαρδίου. Η σύγχρονη αύξηση κατά το έμφραγμα του μυοκαρδίου των επιπέδων της 6-ketoPGI<sub>2</sub> και της TXB<sub>2</sub>, που είναι προϊόντα μεταβολισμού της προστακυκλίνης (PGI<sub>2</sub>) και της θρομβοξάνης (TXA<sub>2</sub>) αντίστοιχα, και του NO, επισημαίνει τη στενή σχέση και αλληλεξάρτηση μεταξύ NO και προστανοειδών (62).

Οι καρδιοπροστατευτικές ιδιότητες του NO οφείλονται και στη γένεση EOP που ενεργοποιούν την πρωτεϊνική κινάση C (PKC) και το βιοχημικό μονοπάτι που σχετίζεται με την ισχαιμική προδιάθεση. Το NO προστατεύει την καρδιά από την κολπική μαρμαρυγή, ενώ η σχηματιζόμενη cGMP ελαττώνει τη συσώρευση του γαλακτικού οξέος στον υποξαιμικό καρδιακό μυ και αναστέλλει τον αναερόβιο μυοκαρδιακό μεταβολισμό αποκλείοντας τη φωσφοφρουκτοκινάση (62).

Οι φαρμακολογικές ιδιότητες των ουσιών που αποδίδουν NO εξαρτώνται από την ποσότητα και τη διάρκεια απόδοσης του αερίου αυτού. Το πρόβλημα της ανοχής είναι γνωστό, οφείλεται εν μέρει στην εξάντληση των σουλφιδρυλικών κυτταρικών αποθεμάτων και στην απευαισθητοποίηση της GC, αν και οι μηχανισμοί είναι πολυπλοκότεροι και εν πολλοίς άγνωστοι. Μεταξύ των αιτίων αναφέρεται και η διέγερση από το NO της παραγωγής EOP που στη συνέχεια αδρανοποιούν το NO μετατρέποντάς το στην υπεροξυνιτρική ρίζα (62).

### **Νέοι στόχοι**

Η ανακάλυψη εδώ και λίγα χρόνια των υποδοχέων PPARs, η διαπίστωση της ευαισθητοποίησης την οποία παρουσιάζουν στην παρουσία των λιπιδίων και το γεγονός ότι ενεργούν ως ρυθμιστές του μεταβολισμού των ενώσεων αυτών και της γλυκόζης, καθιστά τους αγωνιστές των υποδοχέων PPARs όλο και περισσότερο υποσχόμενα φάρμακα για την αντιμετώπιση των μεταβολικών ανωμαλιών και της αθηρωμάτωσης (1,10,41,63,64).

Η έρευνα που συνεχίζεται στον τομέα αυτό και αφορά τη διαλεύκανση του ρόλου τους σε διάφορες βιολογικές παραμέτρους και ο εντοπισμός ενδογενών αγωνιστών, έχουν διεγείρει με τη σειρά τους τη φαρμακολογική έρευνα. Η έρευνα αυτή αποσκοπεί στη σύνθεση ουσιών αγωνιστών με αυξημένη εκλεκτικότητα στους υποδοχείς αυτούς, οι οποίες θα μπορούν να παρεμβαίνουν ευεργετικά στη θεραπεία ενός μεγάλου αριθμού μεταβολικών και αγγειακών διαταραχών που οδηγούν στην αθηροσκλήρωση (10).

Χαρακτηριστικές, μεταξύ άλλων, είναι οι αναφορές για ορισμένα φλαβονοειδή που εκτός των άλλων χαρακτηρίζονται για τις αντιοξειδωτικές τους ιδιότητες.

Η γαλλική-3-επιγαλλοκαθεκίνη είναι μία από τις πολυφαινόλες που ευρίσκονται στο τσάι και ανήκει στα φλαβονοειδή. Η ουσία αυτή αναστέλλει την ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NF-κΒ στα μακροφάγα ανταγωνιζόμενη τις λιποπρωτεΐνες στις ίδιες θέσεις σύνδεσης με τον παράγοντα αυτό. Η ενεργοποίηση του παράγοντα αυτού από τις λιποπρωτεΐνες συνδέεται με τη βιοσύνθεση της συνθετάσης του NO. Παράλληλα, η ουσία αυτή αναστέλλει τη διάσπαση της πρωτεΐνης IκΒ που με τη σειρά της δρα ανασταλτικά στον παράγοντα NF-κΒ. Η ίδια η ουσία έχει και αντιοξειδωτικές ενέργειες. Όλες αυτές οι ενέργειες της γαλλικής-3-επιγαλλοκαθεκίνης και των ομοειδών προς αυτήν φλαβονοειδών αναστέλλουν τον επαγόμενο μεταβολισμό των μακροφάγων και τις παθολογικές καταστάσεις που συνδέονται με την υπερπαραγωγή του NO. Οι ουσίες αυτές αποτελούν αντικείμενο φαρμακολογικής έρευνας. Εχει ήδη αναφερθεί ότι οι υποδοχείς-PPARα στα μακροφάγα δρουν ανασταλτικά στην ενεργοποίηση του παράγοντα NF-κΒ και στην εξέλιξη της φλεγμονής, ενώ ανασταλτική είναι και η ενέργειά τους στη δράση της συνθετάσης του NO (7, 16, 65).

Η 5LOX και άλλα μόρια που εμπλέκονται στις βιοχημικές οδούς που ενεργοποιούνται από αυτήν αποτελούν σήμερα στόχους φαρμακολογικής έρευνας, ώστε να συντεθούν νέα φάρμακα που θα προσφέρουν στην αντιμετώπιση των καρδιαγγειακών παθήσεων (6).

Μεταξύ των παραγόντων που προάγουν τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών ινών περιλαμβάνονται και οι πρωτεΐνες ρεισιστίνη, προφιλίνη και καλπαΐνη. Οι πρωτεΐνες αυτές αποτελούν σήμερα στόχους φαρμακολογικών παρεμβάσεων με σκοπό τον περιορισμό του πολλαπλασιασμού των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος κατά την εξέλιξη της φλεγμονής. Η ενεργότητα της λυσιλοξειδάσης, ενός ενζύμου το οποίο είναι απαραίτητο για τη σωστή διαμόρφωση της τριπλής έλικας του κολλαγόνου, ελαττώνεται από την LDL. Το ένζυμο αυτό είναι επίσης ένας αντιαθηρωματικός φαρμακολογικός στόχος. Χρειάζεται όμως προσοχή, διότι η αναστολή της δράσης του συνεπάγεται βέβαια ελαττωμένη σύνθεση στρώματος, μικρότερη πάχυνση του τοιχώματος και στένωση του αγγείου, ωστόσο η ενέργεια αυτή θα καθιστά τις αθηρωματικές πλάκες λιγότερο σταθερές (28).

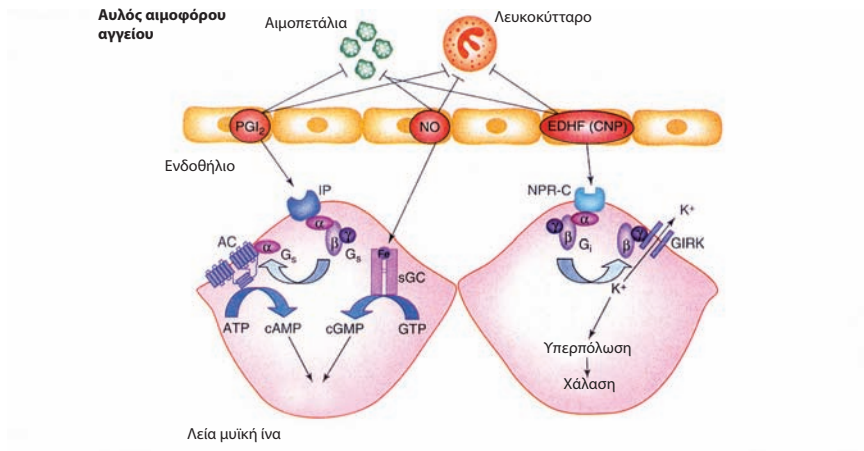
Τέλος, αναφορά θα πρέπει να γίνει στα ω-3-λιπαρά οξέα τα οποία ελαττώνουν τα επίπεδα αίματος της χοληστερόλης και των τριγλυκεριδίων και ασκούν αντιυπερτασικές, αντιφλεγμονώδεις και αντιθρομβωτικές δράσεις. Πρόκειται για πολυακόρεστα λιπαρά οξέα τα οποία δεν συνθέτει ο οργανισμός του ανθρώπου, αλλά ανευρίσκονται άφθονα σε ορισμένες τροφές

όπως κυρίως τα ψάρια, τα βαθυπράσινα φύλλα πολλών λαχανικών και ορισμένα φυτικά έλαια.

Η προσπάθεια στρέφεται επίσης προς τη σύνθεση νέων αγωνιστών των υποδοχέων PPARs . Οι στόχοι είναι δύο: Ο πρώτος αφορά τη σύνθεση εκλεκτικών μη γλιταζονικών αγωνιστών των υποδοχέων PPAR $\gamma$ , ώστε να επιτευχθούν καλύτερα αποτελέσματα με λιγότερες ανεπιθύμητες ενέργειες. Ορισμένα από τα παράγωγα αυτά έχουν φθάσει μέχρι τη φάση II των κλινικών δοκιμασιών. Ο δεύτερος στόχος αφορά τη σύνθεση αγωνιστών με διπλή ιδιότητα, δηλαδή αγωνιστών των υποδοχέων PPAR $\alpha$  και PPAR $\gamma$  συγχρόνως. Εδώ υπάρχουν παράγωγα όπως η τεσαγλιταζάρη και η μουραγλιταζάρη τα οποία ευρίσκονται στη φάση III των κλινικών δοκιμασιών (66).

Η αξιολόγηση κάθε νέου παραγώγου που θα δρα είτε ως αγωνιστής των υποδοχέων PPARs είτε σε άλλους μοριακούς παράγοντες με στόχο να επηρεάσει ανασταλικά την εξέλιξη της αθηρωματώδους βλάβης θα χρειασθεί μεγάλες και μακρού χρόνου κλινικές μελέτες, προκειμένου να επιβεβαιωθούν οι ιδιότητες αυτές στην κλινική πράξη (10).

Το νατριουρητικό πεπτίδιο C-τύπου (CNP:C-type Natriuretic Peptide) το οποίο απελευθερώνεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα έχει πέραν της γνωστής αγγειοδιασταλτικής δράσης, ενέργειες αντιφλεγμονώδεις και αντιαθηρωματικές. Οι ενέργειες αυτές οφείλονται στο ότι αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών ινών του αγγειακού τοιχώματος, τη στράτευση των λευκοκυττάρων και την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Οι ενέργειες αυτές είναι ιδιαίτερα έκδηλες όταν η σύνθεση της προστακυκλίνης (PGI $_2$ ) και του οξειδίου του αζώτου (NO) είναι υποβαθμισμένη, όπως συμβαίνει κατά την αθηρωμάτωση. Η γονιδιακή έκφραση του CNP διεγείρεται από κυτταροκίνες όπως η IL-1 $\beta$ , ο TNF- $\alpha$  και ο TGF, καθώς και από τις λιποπυλυσακχαρίδες, ενώ καταστέλλεται από τις oxLDL. Οι ενέργειες του CNP μεθδεύονται μέσω των υποδοχέων NPR-C (Natriuretic Peptide Receptor-C). Οι υποδοχείς αυτοί είναι υποδοχείς αποκομιδής για όλα τα νατριουρητικά πεπτίδια ρυθμίζοντας με τη δράση αυτή τη συγκέντρωσή τους στο αίμα. Ειδικά όμως το CNP διεγείρει μέσω των υποδοχέων αυτών και με τη μεσολάβηση G-πρωτεϊνών βιοχημικές οδούς. Μία από αυτές προάγει τη διάνοιξη των διαύλων του K $^+$  προκαλώντας υπερπόλωση στις λείες μυϊκές ίνες και αγγειοδιαστολή. Επίσης, το CNP αδρανοποιώντας το σύστημα της αδενυλοκυκλάσης (AC: Adenylcyclase) ή διεγείροντας το σύστημα της φωσφολιπάσης C (Phospholipase C) και με μηχανισμούς εν πολλοίς άγνωστους ασκεί τις παραπάνω αναφερθείσες αντιφλεγμονώδεις και αντιθρομβωτικές δράσεις. Πιθανόν στη δράση του πεπτιδίου αυτού να οφείλεται και η βραδεία εξέλιξη της αθηρωματώδους διαδικασίας. Το CNP αποτελεί σήμερα αντικείμενο μελέτης για φαρμακολογικές παρεμβάσεις σε φλεγμονώδεις καρδιαγγειακές διαταραχές (67).



**Εικόνα 7.17: Αγγειοπροστατευτικοί μηχανισμοί από τρεις κύριους ενδοθηλιακούς παράγοντες, την προστακυκλίνη (PGI<sub>2</sub>), το οξείδιο του αζώτου (NO) και το νατριουρητικό πεπτίδιο C-τύπου (CNP:C-type Natriuretic Peptide).** Η PGI<sub>2</sub> διεγείρει μέσω προστανοειδούς υποδοχέα (IP) και της G<sub>s</sub>-πρωτεΐνης το σύστημα της αδενυλοκυκλάσης (AC: Adenylcyclase) που καταλήγει στη σύνθεση της κυκλικής μονοφωσφορικής αδενοσίνης (cAMP:cyclic Adenosine Monophosphate). Το NO διεγείρει απευθείας το σύστημα της διαλυτής γουανυλοκυκλάσης (sGC:soluble Guanylate Cyclase) και προάγει τη σύνθεση της κυκλικής μονοφωσφορικής γουανοσίνης (cGMP:cyclic Guanosine Monophosphate). Και τα δύο κυκλικά νουκλεοτίδια cAMP και cGMP προκαλούν τη χύλαση του αγγειακού τοιχώματος και αναστέλλουν τη διέγερση των λευκοκυττάρων και των αιμοπεταλίων. Το CNP διεγείρει μέσω των υποδοχέων NPR-C (Natriuretic Peptide Receptor-C) και με την ενδιάμεση μεσολάβηση G-πρωτεϊνών τη διάνοξη των διαύλων του K<sup>+</sup>, προκαλώντας υπερπόλωση στις λείες μυϊκές ίνες και αγγειοδιαστολή.  
*Trends Pharmacol. Sci. 26 (2005)*

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ**

1. Torra-Pineda I., Gervois Ph., Staels B.: Peroxisome proliferator-activated receptor alpha in metabolic disease, inflammation, atherosclerosis and aging. *Cur. Op. Lipidiol.* 10:151-159 (1999)
2. Miller Y., Chang M., Binder C.: Oxidized low density lipoprotein and innate immune receptor. *Cur. Opin. Lipidol.* 14: 437-443 (2003)
3. Leitinger N.; Oxidized phospholipids as modulators of inflammation in atherosclerosis. *Cur. Op. Lipidiol.* 14: 421-430 (2003)
4. Chinetti G., Fruchart J.C., Staels B.: Peroxisome proliferator-activated receptors: new targets for the pharmacological modulation of macrophage gene expression and function. *Cur. Opin. Lipidology* 14: 459-468, (2003)
5. Crea Ph.: Comments to ACES trial. *ESC Congress- September* (2004)
6. Mehrabian M., Allayee H.: 5-Lipoxygenase and atherosclerosis. *Cur. Op. Lipidiol.* 14: 447-457 (2003)
7. Torra IP., Genois Ph.and, Staels B.: Peroxisome proliferator - activated receptor alpha in metabolic disease, inflammation, atherosclerosis and aging. *Curr. Opin. Lipidol* 10: 151-159 (1999)
8. Staels B., Koenig W. and Habi A.: Activation of human aortic smooth muscle cells is inhibited by PPAR $\alpha$  but not by PPAR $\gamma$  activators. Letters to nature. *Nature* 393:790-793 (1998)
9. Schoonjans K, Staels B, Auwerx J. The peroxisome proliferator- activated receptors (PPARs) and their effects on lipid metabolism and adipocyte differentiation. *Biochim Biophys Acta* 1302:93-109 (1996).
10. Tailleux A., Torpier G., Mezdour H., Gruchart J.C.: Murine models to investigate pharmacological compounds acting as ligands of PPARs in dyslipidemia and atherosclerosis. *Trends Pharmacol. Sci* 24: 530-534 (2003)
11. Braissant O., Fougelle F., Scotto C., Dauca M., Wahli W.: Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors: tissue distribution of PPAR  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$  in the adult rat. *Endocrinology* 137:354-366 (1996).
12. Auboeuf D., Rieusset J., Fajas L., Vallier P., Frering V Riou JP: tissue distribution and quantification of the expression of mRNAs of peroxisome proliferator-activated receptors and liver X receptor- $\alpha$  in humans. No alteration in adipose tissue of obese and NIDDM patients. *Diabetes* 46:1319-1327 (1997).
13. Cullingford TE, Bhakoo K., Peuchen S., Dolphin CT, Patel R., Clark JB.: Distribution and quantification of the expression of mRNAs of peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$  and the retinoid X receptor  $\alpha$ ,  $\beta$  and  $\gamma$  in rat nervous system. *J Neurochem* 70:1366-1375 (1998).

14. Granneman J., Skoff R., Yang X.: Member of peroxisome proliferator-activated receptor family of transcription factors is differentially expressed by oligodendrocytes. *J Neurochem* 51:563-573 (1998).
15. Chinetti G., Griglio S., Antonucet M., Derrive P., Majd Z., Fruchart J., Chapman J., Najib J. and Staels B.: Activation of proliferator-activated receptors alpha and gamma induces apoptosis of human monocyte-derived macrophages. *J.Biol.Chem.* 273:25573-25580 (1998)
16. Fruchart J., Duriez P. and Staels B.: Peroxisome proliferator-activated receptor- alpha activators regulate genes governing lipoprotein metabolism, vascular inflammation and atherosclerosis. *Curr. Opin.Lipid.*10:245-257 (1999)
17. Fajas L., Fruchart J-C, Auwerx J.: Transcriptional control of adipogenesis. *Curr Opin Cell Biol* 10:165-173 (1998).
18. Mueller E, Sarraf P., Tontionoz P., Evans RM, Martin K.J., Zhang M.: Terminal differentiation of human breast cancer through PPAR $\gamma$  . *Mol Cell* 1:465-470 (1998)
19. Spiegelman B.: PPAR-gamma; adipogenic regulator and thiazolidinedione receptor. *Diabetes* 47:507-514 (1998)
20. Chen YE, Fu M, Zhang J, Zhu X, Lin Y, Akinbami MA, Song Q.: Peroxisome proliferator-activated receptors and the cardiovascular system. *Vitam. Horm.* 66: 157-188 (2003)
21. Murray R.: Cancer, oncogenes and growth factors. In: Murray R., Granner D., Mayes P. and Rodwell V. eds. «Harper's biochemistry». Prentice-hall Intern. Inc., London 650-663 (1990)
22. Κόκκας Β.: Θέματα Μοριακής Φαρμακολογίας. University Studio Press. Θεσσαλονίκη (1999)
23. Staels B., Koenig W., Habib A., Merval R., Lebreton M., Pineda Torra I.: Activation of human aortic smooth-muscle cells is inhibited by PPAR $\alpha$  but not by PPAR $\gamma$  activators. *Nature* 393:790-793 (1998).
24. Ricote M, Li AC, Willsson TM, Kelly CJ, Glass CK.: The peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  is a negative regulator of macrophage activation. *Nature* 391:79-82 (1998).
25. Jiang C., Ting A., Seed B.: PPAR $\gamma$ - agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. *Nature* 391:82-86 (1996)
26. Pasterkamp G.: The smooth muscle cell. Friend or foe. *ESC-Congress-September* (2004)
27. Busse R., Fleming I.: Regulation of endothelium-derived vasoactive autotoxin production by hemodynamic forces. *Trends Pharmacol. Sci* 24: 24-29 (2003)
28. Fajas L., Fruchart J. and Auwerx J.: Transcriptional control of adipogenesis. *Curr. Opin. Biol.* 10:165-173 (1998)

29. Komers R. and Vrana A.: Thiazolidinediones- tools for the research of metabolic syndrome X. *Physiol. Res.* 47:215-225 (1998)
30. Bayraktutan U., Blayney L., Shah A.: Molecular characterization and localization of the NAD(P)H Oxidase components gp91-phox and 22-phox in endothelial cells. *Arteriosclerosis, Thromb. Vasc. Biol.* 20:1903-17 (2000)
31. Wassmann S., Laufs U., Muller K.: Cellular antioxidant effects of atorvastatin in vitro and in vivo. *Arteriosclerosis, Thromb. Vasc. Biol.* 22: 300-311 (2002)
32. Poynter M. and Daynes D.: PPAR $\alpha$  activation modulates cellular redox status, repress NF $\kappa$ B signalling and reduces inflammatory cytokines production in aging. *J. Biol. Chem.* 273:32833-32841 (1998)
33. Ricote M., Glass Ch.: New roles for PPARs in cholesterol homeostasis. *Trends Pharmacol. Sci.* 22: 441-443, (2001)
34. Wilson M. and Walhi W.: Peroxisome proliferator -activated receptor agonists. *Cur. Opin. Chem. Biol.* 1:235-241 (1997)
35. Kim J., Wright H., Wright M. and Spiegelman B.: ADD1/SREBP1 activates PPAR $\gamma$  through the production of endogenous ligand. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:4333-4337 (1998)
36. Nagy L., Tontoroz P., Alvarez J., Chen H. and Evans R.: Oxidized LDL regulates macrophages gene expression through ligand activation of PPAR $\gamma$ . *Cell* 93:229-240 (1998)
37. Beltowski J, Wojcicka G, Jamroz A.: Peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) in pathophysiology of the circulatory system and prospective use of agonists of these receptors in therapy. *Postepy Hig Med Dosw.* 57: 199-217 (2003)
38. Schonfeld G.: The effect of fibrates on lipoprotein and hemostatic coronary risk factors. *Atherosclerosis* 111:161-174 (1994)
39. Davis St., Granner D.: Insulin, oral hypoglycemic agents and the pharmacology of the endocrine pancreas. . In: Hardman J. and Limbird L. (eds), «Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics ». McGraw-Hill. New York 1679-1713 (2001)
40. Mahley R., Bersot Th.: Drug therapy for hypercholesterolemia and dyslipidemia. In: Hardman J. and Limbird L. (eds), «Goodman and Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics ». McGraw-Hill. New York 971-1002 (2001)
41. Duriez P.: Mechanisms of actions of statins and fibrates. *Therapie* 58: 5-14 (2003)
42. Κόκκας Β., Παπαδόπουλος Κ.Λ., Παπαδόπουλος Π.Κ.: PPAR-υποδοχείς και αντιαθηρωσκληρωτικοί μηχανισμοί. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.* 18: 11-17 (2000)



43. Gbaquidi G., Chineti G., Milosavlevic D.: Peroxisome proliferator activated receptor (PPAR) agonists decrease lipoprotein lipase secretion and glycated LDL uptake by human macrophages. *FEBS Lett.* 512:85-90 (2002)
44. Delerive P, De Bosscher K, Besnard S, Vanden Berghe W, Peters JM, Gonzales FJ, Fruchart JC, Tedgui A, Haegeman G, Staels B.: Peroxisome proliferator- activated receptor alpha negatively regulates the vascular inflammatory gene response by negative cross- talk with transcription factors NF- KappaB and AP-1. *J Biol Chem.* 274: 32048-32054 (1999)
45. Ito H, Nakano A, Kinosita M, Matsumori A.: Pioglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist, attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury in a rat model. *Lab Invest.* 83: 1715-1721 (2003).
46. Pasceri V, Wu HD, Willerson JT, Yeh ET.: Modulation of vascular inflammation in vitro and in vivo by peroxisome proliferator- activated receptor- gamma activators. *Circulation.* 101: 235-238 (2000)
47. Ishibashi M, Egashira K, Hiasa K, Inoue S, Ni W, Zhao Q, Usui M, Kitamoto S, Ichiki T, Takeshita A.: Antiinflammatory and antiarteriosclerotic effects of pioglitazone. *Hypertension* 40: 687-693 (2002)
48. Lefebvre A., Peinado- Onsubre J., Leitersdorf I., Brigge M. and Paterniti J.: Regulation of lipoprotein metabolism by thiazolidinediones occurs through a distinct but complementary mechanism relative to fibrates. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 17: 1756-1764 (1997)
49. Cuzzocrea S, Mazzone E, Dugo L, Patel NS, Serraino I, Di Paola R, Genovese T, Britti D, De Maio M, Caputi AP: Thiemeermann C: Reduction in the evolution of murine type II collagen- induced arthritis by treatment with rosiglitazone, a ligand of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *Arthritis Rheum.* 48:3544-3556 (2003)
50. Sidhu JS, Cowan D, Kaski JC.: The effects of rosiglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonist, on markers of endothelial cell activation, C- reactive protein, and fibrinogen levels in non-diabetic coronary artery disease patients. *J Am Coll Cardiol.* 42: 1757-1763 (2003)
51. Kandoussi A, Martin F, Hazzan M, Noel C, Fruchart JC, Staels B, Duriez P.: HMG-CoA reductase inhibition and PPAR- alpha activation both inhibit cyclosporin A induced endothelin-1 secretion in cultured endothelial cells. *Clin Sci.* 103 (Suppl 48) : 81S-83S (2002)
52. Martin G, Duez H, Blanquart C, Berezowski V, Poulain P, Fruchart JC, Najib- Fruchart J, Glineur C, Staels B.: Statin- induced inhibition of Rho-signaling pathway activates PPARalpha and induces HDL apoA-I. *J Clin Invest.* 107: 1423-1432 (2001)

53. Inoue I, Itoh F, Aoyagi S, Tazawa S, Kusama H, Akahane M, Mastunaga T, Hayashi K, Awata T, Komoda T, Katayama S: Fibrate and statin synergistically increase the transcriptional activities of PPARalpha/RXRalpha and decrease the transactivation of NFkappaB. *Biochem Biophys Res Commun.* 290: 131-9 (2002)
54. Ikeda U., Shimpo M., Onki R.: Fluvastatin inhibits matrix metalloproteinase-1 expression in human vascular endothelial cells. *Hypertension* 36:325-330 (2000)
55. Martin G., Duez E., Blanquart C.: Statin induced inhibition of Rho-signaling pathway activates PPARalpha and induces HDL apo-1. *J. Clin. Invest.* 107:1423-1432 (2001)
56. Ambrosi P, Villani P, Habib G, Bouvenot G.: The statins: new properties. *Therapie.* 58: 15-21 (2003)
57. Pepys M., Hirschfield G.: C-reactive protein. A critical role. *J. Clin. Invest.* 15:1805-1812 (2003)
61. Mulhaupt F, Matter CM, Kwak BR, Pelli G, Veillard NR, Burger F, Graber P, Luscher TF, Mach F: Statins (HMG-CoA reductase inhibitors) reduce CD40 expression in human vascular cells. *Cardiovasc Res.* 59: 755-66 (2003).
59. Berkels R., Egink G., Marsen T.: Nifedipine increases endothelial nitric oxide bioavailability by antioxidative mechanisms. *Hypertension* 37:240-253 (2001)
60. Grote K., Drexler H., Schieffer B.: Renin-angiotensin system and atherosclerosis. *Nephrol. Dial Transplant* 19:770-773 (2004)
61. Myronidou M., Kokkas B., Kouyoumtzis A., Gregoriades N., Loubopoulos A., Mylonas I., Papadopoulos C.L., Mirtsou-Fidani V.: Losartan increases NO production from the bovine aortic wall that is stimulated by angiotensin II. *Eur. J. Inflammation.* 3: 113-117 (2003)
62. Yamamoto T., Bing R.: Nitric oxide donors. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 225:200-206 (2000)
63. Παπαδόπουλος Κ.Α., Κόκκας Β., Μισσοπούλου Α.: Ιστικός καταβολισμός της χοληστερόλης. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακολ. Φαρμακοκιν.* 18: 5-10 (2000)
64. Chapman MJ., Guerin M. and Bruckert E.: Atherogenic, dense low - density lipoproteins. Pathophysiology and new therapeutic approaches. *Europ Heart J.* 19 (Suppl A): A24-A30.(1998)
65. Packer L., Rimbach G. and Virgili F.: Antioxidant activity and biologic properties of a procyanidin rich extract from pine (pinus maritima) bark, pycnogenol. *Free Radical Biol. Med.* 27:704-724 (1999)
66. Berger J., Akiyama T., Meinke P.: PPARs. Therapeutic targets for metabolic disease. *Trends Pharmacol. Sci.* 26: 244-250 (2005)
- 67.; Ahluwalia A., Hobbs A.: Endothelium-derived C-type natriuretic peptide. More than just a hyperpolarizing factor. *Trends Pharmacol. Sci.* 26: 162-167 (2005)

## Κυτταροκίνες και καρδιακή ανεπάρκεια – Φαρμακολογικοί στόχοι

Β. Α. Κόκκας, Π. Κ. Παπαδόπουλος και Κ. Α. Παπαδόπουλος  
Εργαστήριο Φαρμακολογίας και Β' Καρδιολογική Κλινική  
Ιατρική Σχολή Α.Π.Θ.

### περίληψη

Υπάρχουν ισχυρές κλινικές και πειραματικές ενδείξεις ότι ορισμένες προφλεγμονώδεις ή φλεγμονογόνες κυτταροκίνες, όπως ο *TNF-α*, η *ιντερλευκίνη-1* και η *ιντερλευκίνη-6*, έχουν ρόλο στην εξέλιξη της καρδιακής ανεπάρκειας. Υπάρχουν, επίσης, ενδείξεις ότι η ρύθμιση των επιπέδων των κυτταροκινών αυτών μπορεί να αποτελέσει μία νέα θεραπευτική προσέγγιση για την αντιμετώπιση της νόσου. Οι περισσότερες προσπάθειες στρέφονται προς την καταστολή της σύνθεσης του *TNF-α* στο επίπεδο της μεταγραφής του γονιδίου που κωδικοποιεί την κυτταροκίνη αυτή. Έχει επίσης παρατηρηθεί σε πειραματικό επίπεδο ότι η χορήγηση ανταγωνιστών του *TNF-α* βελτίωσε την κλινική εικόνα ασθενών που έπασχαν από προχωρημένη μορφή καρδιακής ανεπάρκειας.

### εισαγωγή

Η καρδιακή ανεπάρκεια αντιπροσωπεύει μία προοδευτική διαταραχή η οποία ξεκινά από ένα συγκεκριμένο αίτιο που είτε προκαλεί, με τη σειρά του, προοδευτική απώλεια των καρδιακών μυϊκών κυττάρων είτε διαταράσσει την ικανότητά τους να συσπώνται φυσιολογικά.

Μεταξύ των καρδιακών παθήσεων που μπορούν να οδηγήσουν την καρδιά σε ανεπάρκεια περιλαμβάνονται η ισχαιμία και το έμφραγμα, τα οποία αλλάζουν την τοπική λειτουργικότητα του μυοκαρδίου, η μυοκαρδιοπάθεια που αλλάζει τη συνολική (global) λειτουργικότητα του μυοκαρδίου και η αυξημένη πίεση ή καταστάσεις υπερφόρτισης.

Η καρδιακή ανεπάρκεια χαρακτηρίζεται επίσης από νευροορμονικές μεταβολές, όπως είναι η υπερδραστηριότητα του συμπαθητικού με αυξημένα επίπεδα κυκλοφορικών κατεχολαμινών, η διέγερση του συστήματος ρενίνης-αγγειοτασίνης-αλδοστερόνης η οποία, μεταξύ άλλων, συμβάλλει στην ανάπτυξη του οξειδωτικού στρες, η αύξηση της δραστηριότητας του συστήματος της ενδοθελίνης και η αύξηση των κυκλοφορικών κυτταροκινών.

Η συμβολή των κυτταροκινών στην εξέλιξη της καρδιακής ανεπάρκειας αναπτύσσεται στις γραμμές που ακολουθούν.

## ΤΑΥΤΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ

Οι κυτταροκίνες αποτελούν μία ομάδα πρωτεϊνικών μορίων, σχετικά μικρού Μ.Β. (15-30 kDa), που απελευθερώνονται από τα κύτταρα ως απάντηση σε μία ποικιλία ερεθισμάτων και δρουν είτε ως τοπικοί είτε ως συστηματικοί παράγοντες, επικοινωνίας μεταξύ των κυττάρων. Μικροβιακοί παράγοντες όπως διάφοροι λιποπολυσακχαρίδες, καθώς και ενδογενείς ουσίες που έχουν σχέση με τη φλεγμονή, όπως η βραδυκίνη, οι ιντεγκρίνες κ.α, αποτελούν τα κυριότερα ερεθίσματα που προάγουν τη σύνθεση και την απελευθέρωση των κυτταροκινών (1-5).

Τα βασικά λειτουργικά χαρακτηριστικά των κυτταροκινών είναι τα παρακάτω:

1. Δρουν ως αγγελιαφόροι του ανοσιακού συστήματος.
2. Συντίθενται κυρίως από τα φλεγμονώδη CD4+T κύτταρα και τα μακροφάγα, χωρίς αυτό να σημαίνει ότι συντίθενται μόνο από αυτά.
3. Οι κυτταροκίνες ομοιάζουν με τις ορμόνες, γιατί συνδέονται με υψηλή εκλεκτικότητα με ειδικούς υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης.
4. Διαφέρουν από τις ορμόνες, γιατί συντίθενται από μία ποικιλία κυττάρων. Επίσης διαφέρουν διότι ενώ οι ορμόνες έχουν μόνο απομακρυσμένη δράση (ενδοκρινική δράση), οι κυτταροκίνες δρουν μεν κυρίως τοπικά (αυτοκρινική και παρακρινική δράση), έχουν όμως και απομακρυσμένη δράση.
5. Οι κυτταροκίνες μπορεί να είναι:
  - α. Πλειοτροπικές ( Μία κυτταροκίνη με πολλές δράσεις).
  - β. Πλεονάζουσες ( Πολλές κυτταροκίνες με ένα αποτέλεσμα).
  - γ. Συνεργικές (Συνδυασμένη δράση μεταξύ τους που αυξάνει το αποτέλεσμα).
  - δ. Ανταγωνιστικές (μία κυτταροκίνη να ανταγωνίζεται τη δράση της άλλης).

Οι προφλεγμονώδεις ή φλεγμονογόνες ή από το στρες (κακοποίηση) ενεργοποιούμενες κυτταροκίνες ενεργούν ως μεσολαβητές που προάγουν την εξέλιξη της καρδιακής ανεπάρκειας.

Όλα τα εμπύρνα κύτταρα του μυοκαρδίου είναι σε θέση να συνθέτουν και να απελευθερώνουν φλεγμονογόνες κυτταροκίνες, οι κυριότερες από τις οποίες είναι ο νεκρωτικός των όγκων παράγοντας-α (TNF-α: Tumor Necrosis Factor -α), η ιντερλευκίνη-1 (IL-1: Interleukin-1) και η ιντερλευκίνη-6 (IL-6: Interleukin-6). Αυτό συμβαίνει σε απάντηση διαφόρων τραυματικών ερεθισμάτων και μάλιστα χωρίς να έχει διεγερθεί το ανοσοποιητικό σύστημα. Τα κυριότερα από τα ερεθίσματα αυτά είναι η οξεία μυοκαρδίτιδα από ιό, η απόρριψη καρδιακού μοσχεύματος, το έμφραγμα του μυοκαρδίου, η

ασταθής στηθάγχη, ο τραυματισμός από επαναιμάτωση του μυοκαρδίου, η υπερτροφική μυοκαρδιοπάθεια, η καρδιακή ανεπάρκεια, η καρδιοπνευμονική παράκαμψη (εξωσωματική κυκλοφορία), η ανεπάρκεια σε μαγνήσιο και η αυξημένη αρτηριακή πίεση. Η βιολογική δραστηριότητα της κάθε κυτταροκίνης εξαρτάται από τη συγκέντρωση της τελευταίας, την πυκνότητα των υποδοχέων της στα σημεία στα οποία θα δράσει, καθώς επίσης και από την παρουσία κυκλοφορούντων αγωνιστών ή ανταγωνιστών για κάθε συγκεκριμένη κυτταροκίνη (1,4).

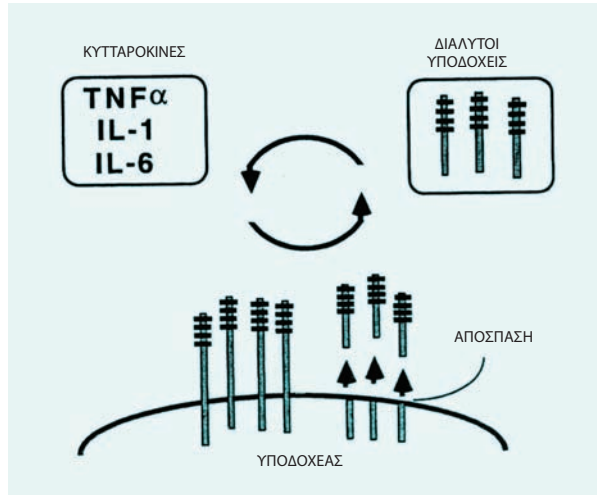
### **TNF- $\alpha$**

Η κυτταροκίνη αυτή, εκτός από τις κυτταροπροστατευτικές και κυτταροτοξικές ενέργειες, σε ορισμένους ιστούς επηρεάζει την αύξηση, διαφοροποίηση και λειτουργία των κυττάρων, των καρδιομυοκυττάρων συμπεριλαμβανομένων (1,6-8).

Ο TNF- $\alpha$  συντίθεται αρχικά ως μία γλυκοζυλιωμένη διαμεμβρανική πρωτεΐνη της τάξης των 25 kDa περίπου, η οποία αποκόπτεται με τη δράση ενός μεμβρανικού ενζύμου που ονομάζεται TACE (TNF- $\alpha$  Converting Enzyme: TNF- $\alpha$  κονβερτάση), με αποτέλεσμα να παράγεται μία εκκρινόμενη μορφή πρωτεΐνης της τάξης των 17 kDa, η οποία απελευθερώνεται και κυκλοφορεί με τη μορφή ενός σταθερού ομοτριμερούς της τάξης των 51 kDa. Στην οικογένεια των ενζύμων αυτών, που είναι ψευδαργυρομεταλλοπεπτιδάσες οι οποίες εκτοπίζουν τα εκτός της κυτταρικής μεμβράνης τμήματα των πρωτεϊνών, ανήκουν, εκτός του TACE, το MEA (Μετατρεπτικό Ένζυμο της Αγγειοτασίνης) και η σεκρετάση της πρόδρομης πρωτεΐνης του αμυλοειδούς (1,9,10).

Ο TNF- $\alpha$  διεγείρει δύο είδη διαμεμβρανικών υποδοχέων, τον TNFR1 (55-kDa) και τον TNFR2 (75kDa). Και οι δύο υποτύποι υποδοχέων παρουσιάζουν στο εξωκυττάριο τμήμα τους ένα κοινό κομμάτι που συνίσταται από επαναλαμβανόμενη κυστεΐνη, ενώ το ενδοκυττάριο τμήμα τους διαφέρει μεν, γεγονός που σημαίνει ότι κινητοποιούν διαφορετικές βιοχημικές οδούς, ξεκινά όμως από μία διασταυρούμενη συνένωση μεταξύ τους (1).

Υπάρχουν ενδείξεις ότι ο υποδοχέας TNFR1 ευθύνεται για τις περισσότερες βλαπτικές δράσεις στα μυοκαρδιακά κύτταρα, ενώ ο υποδοχέας TNFR2 ασκεί προστατευτικό ρόλο. Η διέγερση του υποδοχέα TNFR1 σχετίζεται με την αρνητική ινότροπη δράση, ενώ παράλληλα προάγει την απόπτωση των καρδιακών κυττάρων και αυξάνει την έκφραση της πρωτεΐνης θερμικής καταπληξίας 72 (HSP72: Heat Shock Protein 72). Η διέγερση του υποδοχέα TNFR2 προστατεύει το μυοκάρδιο από το στρες υποξίας και από τον ισχαιμικό τραυματισμό, αλλά δεν επηρεάζει την κινητικότητα των κυττάρων (1,11,12).



**Εικόνα 8.1: Υποδοχείς των κυτταροκινών.** Οι φλεγμονογόνες κυτταροκίνες δρουν διεγείροντας υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης. Παράλληλα δεσμεύονται από τους αντίστοιχους διαλυτούς υποδοχείς που προέρχονται από τους πρώτους, ύστερα από την πρωτεολυτική δράση ενζύμων που τους αποσπών από την κυτταρική μεμβράνη. Στη συνέχεια, οι διαλυτοί υποδοχείς οδεύουν από τον εξωκυττάριο χώρο προς την κυκλοφορία.

*Hosenpud J., Greenberg B. Congestive Heart Failure (2000)*

Οι υποδοχείς αυτοί διεγείρονται από τον TNF-α και διαφόρους λιποσακχαρίδες και εστέρες φορβόλης. Μετά τη διέγερσή τους, αποκόπτονται και απορρίπτονται τα εξωκυττάρια τμήματά τους τα οποία κυκλοφορούν ως διαλυτοί υποδοχείς (sTNF-R). Τα τμήματα αυτά λειτουργούν πιθανόν στην αρχή ως ηθμοί στις τοξικές δράσεις του TNF-α, μακροπρόθεσμα, όμως, φαίνεται ότι επιτείνουν τη δράση του τελευταίου, διότι σταθεροποιούν το τριμερές του το οποίο απελευθερώνουν σταδιακά.

### **Ιντερλευκίνη-1**

Η IL-1 η οποία συντίθεται από διάφορα κύτταρα, μεταξύ των οποίων και τα μυοκαρδιακά, διακρίνεται σε δύο τύπους, την IL1α και την IL-1β οι οποίες διεγείρουν τον ίδιο υποδοχέα. Οι πρόδρομες μορφές αυτών είναι πρωτεΐνες της τάξης των 31 kDa οι οποίες υπό την επίδραση πρωτεασών και συγκεκριμένα του ενζύμου μετατροπής της ιντερλευκίνης (ICE: Interleukin Converting Enzyme) μετατρέπονται σε ώριμες μορφές της τάξης των 17 kDa, εκ των οποίων η IL1α παραμένει στην κυτταρική μεμβράνη ενώ η IL-1β απελευθερώνεται από το κύτταρο. Η τελευταία έχει ευρεθεί ότι συντίθεται από το μυοκάρδιο υπό την επίδραση διεγερτικών παραγόντων του περιβάλλοντος.

Παράλληλα, τα κύτταρα συνθέτουν και την ILR1α ( Interleukin-1 Receptor Antagonist) που δρα ως ανταγωνιστής στον υποδοχέα των IL1α και IL-1β.

Ο υποδοχέας αυτός (IL-1R), που σύμφωνα με όλες τις ενδείξεις υπάρχει και στα μυοκαρδιακά κύτταρα, διακρίνεται σε δύο υποτύπους: Τον IL-RI που συνδέεται με την IL1α και την IL-1β και παράγει βιοχημικό σήμα και τον IL-RII που συνδέεται πάλι με τις ίδιες ουσίες, αλλά δεν παράγει βιοχημικό σήμα. Χρησιμεύει όμως ως ένα είδος συλλέκτη για την IL-1 και ονομάζεται υποδοχέας παγίδευσης (decoy receptor). Η παραγωγή του σήματος βασίζεται στην ένωση του υποδοχέα IL-1RI με μία βοηθητική πρωτεΐνη (IL-1R-AcP: Interleukin-1 Receptor Accessory Protein) και στο σχηματισμό ενός ετεροτριμερούς το οποίο με τη σειρά του παράγει το σήμα. Σε αντίθεση με αυτά, η ILR1α, ενώ ενώνεται με τον υποδοχέα, δεν μπορεί να προκαλέσει το σχηματισμό του ετεροδιμερούς και γι' αυτό δεν παράγεται σήμα. Μετά τη διέγερση, το εξωκυττάριο τμήμα και των δύο υποτύπων του υποδοχέα που είναι διαλυτό, αποσπάται και περνά στην κυκλοφορία χρησιμεύοντας ως ηθμός για τις IL1α, IL-1β και ILR1α (1,13).

### **Ιντερλευκίνη-6**

Πρόκειται για μία γλυκοπρωτεΐνη 26 kDa που μεθοδεύει φλεγμονώδεις αντιδράσεις και η οποία αποτελείται από 184 αμινοξέα. Η IL-6 προέρχεται από μία πρόδρομη μορφή πρωτεΐνης που αποτελείται από 212 αμινοξέα. Έχει διαπιστωθεί η παρουσία της στην κυκλοφορία σε καρκινοπαθείς υπό ανοσοθεραπεία. Επίσης, έχει διαπιστωθεί κατά την εγκατάσταση της καρδιακής ανεπάρκειας, χωρίς όμως να παρουσιάζεται με τη μορφή συμπλόκων που μπορεί να περιέχουν και άλλες πρωτεΐνες, όπως η πρωτεΐνη υποδοχέας της IL-6R, τα IL-6 αντισώματα και οι anti-SIL-6Rs ( anti-soluble IL-6 Receptors) (14,15).

Έχει διαπιστωθεί ότι σε καταστάσεις καρδιακής αποπληξίας (stunning) υπό την επίδραση των TNF-α και IL1α διεγείρεται ο μεταγραφικός παράγοντας NF-κΒ ο οποίος, με τη σειρά του, προάγει την έκφραση του γονιδίου που κωδικοποιεί την IL-6 (15).

Ο υποδοχέας IL-6R ευρίσκεται στην κυτταρική μεμβράνη και είναι μία πρωτεΐνη της τάξης των 8 kDa. Όταν η IL-6 ενώνεται μαζί του, τότε αυτός με τη σειρά του συνδέεται με μία μεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη (gp:glycoprotein) των 130 kDa που χαρακτηρίζεται ως πρωτεΐνη προσορμισμού (docking) και η οποία μεταδίδει το σήμα. Πιστεύεται ότι αυτή η gp130 παίζει σημαντικό ρόλο στη φυσιολογική ανάπτυξη και εξέλιξη της καρδιάς.

### **Ενδοκυττάριο σήμα και προαγωγή της φλεγμονής**

Τόσο ο TNF-α όσο και η IL-1 είναι σε θέση να πυροδοτούν παρόμοια βιολο-

γικά αποτελέσματα μέσα από την ενεργοποίηση της ίδιας ομάδας μεταγραφικών παραγόντων. Υπάρχουν ενδείξεις ότι ορισμένα μέλη της οικογένειας MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) μεσολαβούν για τη μετάδοση του σήματος σε ενδοκυττάριο επίπεδο. Εκείνο που συνδέει τους υποδοχείς των δύο αυτών κυτταροκινών με το σύστημα της MAPK είναι μία νέα ομάδα πρωτεϊνών που είναι γνωστές ως TRAFs (TNF –Receptor-Associated Factors). Οι φλεγμονογόνες κυτταροκίνες TNF- $\alpha$  και IL-1 ασκούν τις ενέργειές τους μέσα από την ενεργοποίηση δύο κυρίως μεταγραφικών παραγόντων, του NF- $\kappa$ B (Nuclear Factor- $\kappa$ B) και της AP-1 (Activated Protein-1). Οι μεταγραφικοί παράγοντες αυτοί προάγουν τη μεταγραφή πολλών πρωτεϊνών που είναι υπεύθυνες για τη φλεγμονώδη αντίδραση και την ανοσιακή απόκριση, όπως διάφορες κυτταροκίνες, προσφυτικά μόρια, αυξητικοί παράγοντες, μεταλλοπρωτεϊνάσες και άλλες πρωτεΐνες που είναι υπεύθυνες για τη σύνθεση των προσταγλανδινών, των λευκοτριενών και του NO (16).

Παράλληλα, ο υποδοχέας του TNF- $\alpha$  επικοινωνεί μέσω της TRADD (Tumor Necrosis Factor 1 Associated Death Domain) με ειδικούς προσαρμοστές, όπως ο FLICE/MORT-1, και μέσω αυτών διασταυρώνεται με τη βιοχημική οδό, και συγκεκριμένα με τις πρωτεάσες που μεθοδεύουν το μηχανισμό της απόπτωσης (16,17).

## **ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ ΣΤΑ ΜΥΟΚΑΡΔΙΑΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ**

### ***Ο ρυθμιστικός ρόλος των $Ca^{2+}$ στα μυοκαρδιακά κύτταρα***

Είναι γνωστό ότι τα  $Ca^{2+}$  αποτελούν σημαντικό κλειδί για την ενεργοποίηση κάθε κυττάρου. Η αύξηση των ιόντων αυτών με την ελεύθερη μορφή στο κυτταρόπλασμα, πέραν μιας συγκεντρώσεως που θεωρείται ουδός, έχει ως αποτέλεσμα να κινητοποιούνται οι μηχανισμοί εκείνοι που καταλήγουν στη φωσφορυλίωση των κατάλληλων πρωτεϊνών και τη βιολογική απάντηση του κυττάρου. Τα  $Ca^{2+}$  ευρίσκονται τόσο στον εξωκυττάριο χώρο όσο και στον ενδοκυττάριο χώρο. Μεταξύ των δύο αυτών χώρων υπάρχει μια δυναμική ισορροπία. Κατά τη διέγερση του κυττάρου,  $Ca^{2+}$  εισέρχονται στο κυτταρόπλασμα τόσο από τον εξωκυττάριο χώρο μέσα από διαύλους όσο και από τις ενδοκυττάρειες αποθήκες. Κατά τη φάση επαναπόλωσης του κυττάρου, τα  $Ca^{2+}$  εξέρχονται του κυτταροπλάσματος μέσα από αντλητικούς μηχανισμούς που απαιτούν την κατανάλωση ενέργειας άμεσα ή έμμεσα μέσω συνεζευγμένων αντλιών (18-20).

Οι διαύλοι του  $Ca^{2+}$  υπάρχουν τόσο στην κυτταρική μεμβράνη όσο και στο σαρκοπλασματικό δίκτυο. Διακρίνονται στους χημειοευαίσθητους ή ενεργοποιούμενους από τους υποδοχείς (ROC: Receptor Operating Chan-



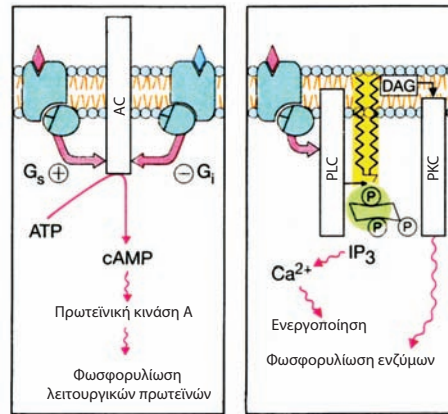
nels) και στους δυναμικοευαίσθητους διαύλους (POC: Potential Operating Channels). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον για το μυοκάρδιο έχουν οι POC της κυτταρικής μεμβράνης και οι ROC της μεμβράνης του σαρκοπλασματικού δικτύου (21,22).

Σύμφωνα με πρόσφατες αναφορές, οι POC-διάυλοι  $Ca^{2+}$  απαρτίζονται από ετερομερείς πρωτεΐνες και διακρίνονται σε έξι λειτουργικές υποομάδες που χαρακτηρίζονται από τα γράμματα T, L, N, P, Q και R. Αυτές οι υποομάδες εντάσσονται σε δύο κατηγορίες: Στην πρώτη κατηγορία των διαύλων που ενεργοποιούνται με μικρή μείωση του δυναμικού ηρεμίας ανήκει μόνο η υποομάδα των T-διαύλων που ενεργοποιείται και σύντομα αδρανοποιείται. Οι διάυλοι αυτοί παρουσιάζουν μικρή αγωγιμότητα. Στη δεύτερη κατηγορία των ενεργοποιημένων κατόπιν ισχυρής αποπόλωσης εντάσσονται όλοι οι υπόλοιποι διάυλοι. Στις λείες μυϊκές ίνες κυριαρχεί ο L - διάυλος.

Οι διάυλοι του  $Ca^{2+}$  στη μεμβράνη του σαρκοπλασματικού δικτύου του μυοκαρδιακού κυττάρου ανήκουν στην κατηγορία των ROC. Υπάρχουν δύο κατηγορίες: Αυτοί που ανοίγουν μετά τη διέγερση των υποδοχέων της τριφωσφορικής ινοσιτόλης ( $IP_3$ : Inositol Triphosphate) στη μεμβράνη του οργανυλίου αυτού και εκείνοι που ανοίγουν ύστερα από τη διέγερση των υποδοχέων της ρυανοδίνης στην ίδια μεμβράνη.

Η  $IP_3$  είναι το προϊόν της ενζυματικής δράσης του ενζύμου φωσφολιπάση C (PLC: Phospholipase C) στη διφωσφορική φωσφατιδυλινόσιτολη ( $PIP_2$ : Phosphatidyl Inositol Diphosphate) της κυτταρικής μεμβράνης. Το ένζυμο αυτό ενεργοποιείται ύστερα από τη διέγερση των επταμεμβρανικών υποδοχέων της κυτταρικής μεμβράνης που συνδέονται με τη  $G_q$  πρωτεΐνη. Η  $IP_3$  περνά στο κυτταρόπλασμα και φθάνοντας στη μεμβράνη του σαρκοπλασματικού δικτύου διεγείρει τους υποδοχείς της προάγοντας την απελευθέρωση του  $Ca^{2+}$  στο κυτταρόπλασμα. Δηλαδή, ενεργεί ως δεύτερος αγγελιαφόρος του μηνύματος που φθάνει στους επταδιαμεμβρανικούς υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης από τον εξωκυττάριο χώρο είτε με τη μορφή μιας ενδογενούς ουσίας είτε τη μορφή ενός φαρμάκου (18,23-25).

Οι διάυλοι των υποδοχέων της ρυανοδίνης αποτελούν μια τετραμερή δομή που συντίθεται από τέσσερις υπομονάδες που η κάθε μία είναι της τάξης των 565000 Daltons. Οι διάυλοι αυτοί είναι 10 φορές ευρύτεροι από τους POC της κυτταρικής μεμβράνης και φέρουν τους ομώνυμους υποδοχείς της ρυανοδίνης οι οποίοι διεγείρονται από την αύξηση του κυτταροπλασματικού  $Ca^{2+}$ . Οι υποδοχείς της ρυανοδίνης είναι μακρομοριακά συμπλέγματα που περιέχουν, μεταξύ άλλων την PKA (Protein Kinase A) και την προς αυτή συνδεδεμένη πρωτεΐνη mAΚAP, τις πρωτεϊνικές φωσφατάσες PP1 και PP2A, τη σορσίνη, την καλμοδουλίνη και την FKBP (FK Binding Protein) (26,27-31).

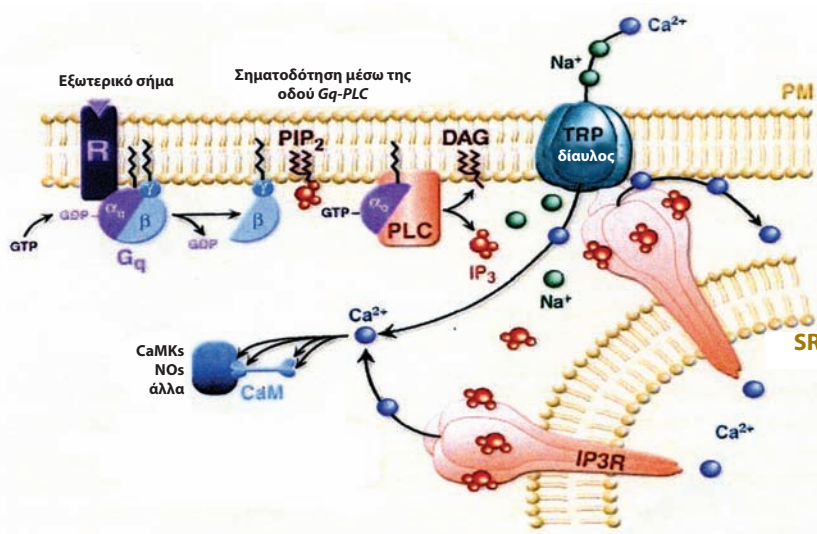


**Εικόνα 8.2: Μετάδοση της διέγερσης από τους επαδιαμεμβρικούς υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης που ρυθμίζουν το σύστημα της AC και της PLC προς τα ενδότερα του κυττάρου.** Η διέγερση μιας κατηγορίας υποδοχέων οδηγεί μέσω της  $G_s$ -πρωτεΐνης στην ενεργοποίηση του ενζυμικού συστήματος της αδενυλοκυκλάσης (AC: Adenylcyclase). Αποτέλεσμα είναι η μετατροπή της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) σε κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη (cAMP) η οποία περνά στο κυτταρόπλασμα ως δεύτερος αγγελιαφόρος και ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση A (PKA: Protein Kinase A). Η διέγερση μιας δεύτερης κατηγορίας υποδοχέων οδηγεί μέσω της  $G_q$ -πρωτεΐνης σε αδρανοποίηση το ενζυμικό σύστημα της AC. Η διέγερση μιας τρίτης κατηγορίας υποδοχέων οδηγεί μέσω της  $G_q$ -πρωτεΐνης σε διέγερση το ενζυμικό σύστημα της φωσφολιπάσης C (PLC: Phospholipase C). Αποτέλεσμα του τελευταίου είναι η υδρόλυση της διφωσφορικής φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης ( $PIP_2$ : Phosphatidyl Inositol Biphosphate) σε διακυολγλυκερόλη (DAG: Diacylglycerol) και σε τριφωσφορική ινοσιτόλη ( $IP_3$ : Inositol Triphosphate). Η DAG ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση C (PKC: Protein Kinase C), ενώ η  $IP_3$  περνάει στο κυτταρόπλασμα ως δεύτερος αγγελιαφόρος απελευθερώνοντας  $Ca^{2+}$ .

Lullmann H. et al. *Color Atlas of Pharmacology* (1993)

Δύο μηχανισμοί περιορίζουν τη διέγερση των υποδοχέων της ρυανοδίνης. Η ανασταλτική δράση της πρωτεΐνης FKBP και η πρόσδεση σε αυτούς μιας άλλης πρωτεΐνης, της σορσίνης. Η φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης FKBP αποσταθεροποιεί τους υποδοχείς αυτούς, γιατί οδηγεί σε απομάκρυνση της ρυθμιστικής πρωτεΐνης FKBP από τους αντίστοιχους διαύλους, με αποτέλεσμα την αυξημένη έξοδο  $Ca^{2+}$ . Παράλληλα, η αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$  αποφωσφορυλώνει τη σορσίνη, η οποία, με τη σειρά της, μετακινείται προς τη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου και απενεργοποιεί τους υποδοχείς της ρυανοδίνης. Η ελάττωση του ελεύθερου ενδοκυττάρου  $Ca^{2+}$  προκαλεί την απομάκρυνση της σορσίνης και την εκ νέου αδρανοποίησή της με φωσφορυλίωση (22,28,29).

Για να κενωθεί, όμως το ενδοπλασματικό δίκτυο από τα  $Ca^{2+}$  πρέπει πρώτα να πληρωθεί. Αυτό γίνεται με τη βοήθεια της αντλίας SERCA  $Ca^{2+}$  - ATP αση. Μια πρωτεΐνη, η φωσφολαμβάνη ή φωσφοληπτίνη (phospholamban)

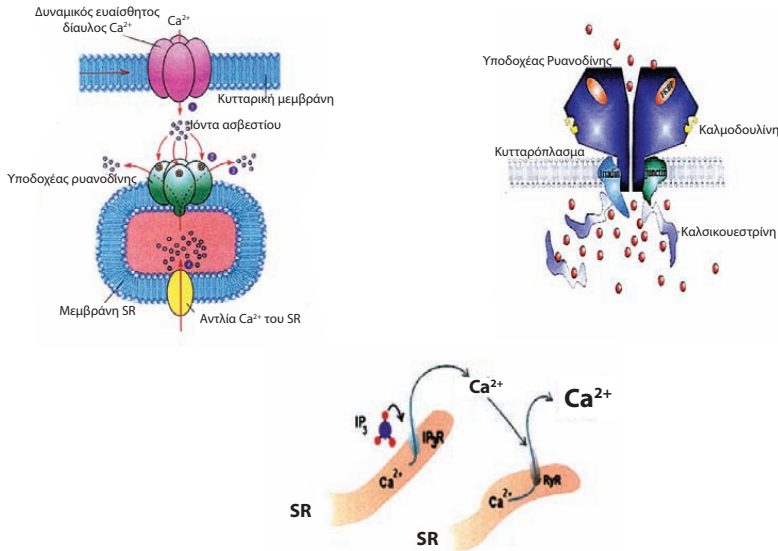


**Εικόνα 8.3:** Μετάδοση της διέγερσης από τους επταδιαμεμβρανικούς υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης που διεγείρουν το σύστημα της PLC προς τα ενδότερα του κυττάρου. Η διέγερση των υποδοχέων αυτών ενεργοποιεί μέσω της  $G_q$ - πρωτεΐνης το ενζυμικό σύστημα της φωσφολιπάσης C (PLC: Phospholipase C). Αποτέλεσμα είναι η υδρόλυση της διφωσφορικής φωσφατιδυλοϊνοσιτόλης ( $PIP_2$ : Phosphatidyl Inositol Biphosphate) σε διακυλογλυκερόλη (DAG: Diacylglycerol) και σε τριφωσφορική ινοσιτόλη ( $IP_3$ : Inositol Triphosphate). Η DAG ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση C (PKC: Protein Kinase C), ενώ η  $IP_3$  περνάει στο κυτταρόπλασμα ως δεύτερος αγγελιαφόρος και διεγείρει τους ομώνυμους υποδοχείς στη μεμβράνη του σαρκοπλασματικού δικτύου προάγοντας την έξοδο των  $Ca^{2+}$ . PM (Plasma Membrane: Κυτταρική μεμβράνη), SR (Sarcoplasmic Reticulum: Σαρκοπλασματικό δίκτυο).

Δ. Γιαννακίδη, Internet - Medline (2005)

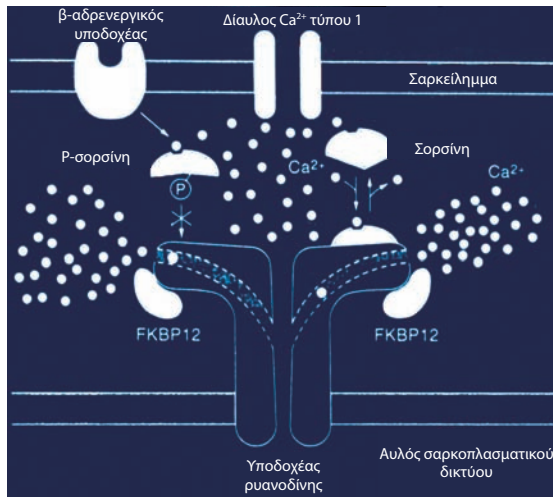
δρα ανασταλτικά στην αντλία αυτή. Η φωσφορυλίωση της φωσφολαμβάνης έχει ως αποτέλεσμα την αδρανοποίησή της και την ως εκ τούτου ομαλή λειτουργία της αντλίας αυτής. Φωσφορυλίωση προκαλεί και η PKA η οποία, μεταξύ άλλων, ενεργοποιείται, όπως ήδη αναφέρθηκε, ύστερα από τη διέγερση των  $\beta$ -αδρενεργικών υποδοχέων της κυτταρικής μεμβράνης (22,29).

Ο ρόλος των  $\beta_1$ -αδρενεργικών υποδοχέων της κυτταρικής μεμβράνης στην καρδιακή λειτουργία είναι γνωστός και δεν χρειάζεται να αναπτυχθεί. Οι υποδοχείς αυτοί είναι γνωστό ότι μέσω της  $G_s$  πρωτεΐνης διεγείρουν το ενζυμικό σύστημα της αδενυλοκυκλάσης (AC: Adenyl Cyclase) και αυτό οδηγεί στο σχηματισμό της κυκλικής μονοφωσφορικής αδενοσίνης (cAMP) και στην ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης A (PKA: Protein Kinase A). Ως εκ τούτου, η διέγερση των  $\beta_1$ -αδρενεργικών υποδοχέων και η επακολουθούσα ενεργοποίηση της PKA οδηγεί σε φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών FKBP, σορσίνης και SERCA. Κατά τη φάση που προηγείται της καρδιακής



**Εικόνα 8.4: Δομή και λειτουργία των υποδοχών της ρυανοδίνης στη μεμβράνη του σαρκοπλασματικού δικτύου.** Η αύξηση της συγκέντρωσης των Ca<sup>2+</sup> στο κυτταρόπλασμα οφείλεται στην απελευθέρωσή τους από το σαρκοπλασματικό δίκτυο υπό την επίδραση της IP<sub>3</sub> και στην είσοδό τους διά των δυναμικοευαίσθητων διαύλων της κυτταρικής μεμβράνης. Καθώς αυξάνει η συγκέντρωσή τους στο κυτταρόπλασμα, τα ιόντα αυτά διεγείρουν τους υποδοχείς της ρυανοδίνης που ευρίσκονται επίσης στη μεμβράνη του σαρκοπλασματικού δικτύου, με αποτέλεσμα να ανοίγουν οι διάυλοι αυτοί και τα Ca<sup>2+</sup> να εξέρχονται στο κυτταρόπλασμα. Η πρωτεΐνη FKBP (FK Binding Protein) του διαύλου της ρυανοδίνης δρα ανασταλτικά και περιορίζει την έξοδο των ιόντων αυτών. Η φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης αυτής οδηγεί στην αδρανοποίησή της. Φωσφορυλίωση προκαλεί και η PKA (Protein Kinase A) η οποία, μεταξύ άλλων, ενεργοποιείται ύστερα από τη διέγερση των β-αδρενεργικών υποδοχών της κυτταρικής μεμβράνης. SR: σαρκοπλασματικό δίκτυο, IP<sub>3</sub>: τριφωσφορική ινοσιτόλη, IP<sub>3</sub>R: υποδοχέας τριφωσφορικής ινοσιτόλης, RyR: υποδοχέας ρυανοδίνης.  
Δ. Γιαννακίδης, *Internet - Medline* (2005)

συστολής, η φωσφορυλίωση των FKBP και της σορσίνης οδηγεί σε αυξημένες συγκεντρώσεις Ca<sup>2+</sup> στο κυτταρόπλασμα. Τα ιόντα αυτά καθώς συνδέονται με την τροπονίνη C προάγουν τη σύνδεση των γεφυρών της μυοσίνης με την ακτίνη με αποτέλεσμα τη συστολή. Κατά τη φάση που προηγείται της καρδιακής διαστολής, η PKA φωσφορυλιώνει την τροπονίνη I, η οποία ελαττώνει τη χημική τάση ένωσης του Ca<sup>2+</sup> με συσταλτές πρωτεΐνες, ενώ το αποδεσμευόμενο ιόν περνά αφενός προς το σαρκοπλασματικό δίκτυο λόγω αδυναμίας παρεμβολής της ανασταλτικής δράσης της φωσφολαμβάνης, η οποία αδρανοποιείται φωσφορυλιούμενη από την ίδια κινάση, αφετέρου προς τον εξωκυττάριο χώρο ανταλλάσσόμενο με Na<sup>+</sup>. Το αποτέλεσμα είναι το σαρκοπλασματικό δίκτυο να πληρούται χωρίς εμπόδια από τα Ca<sup>2+</sup>, τα οποία στη συνέχεια κινούνται με ευκολία εκ νέου προς το κυτταρόπλασμα (29,32).

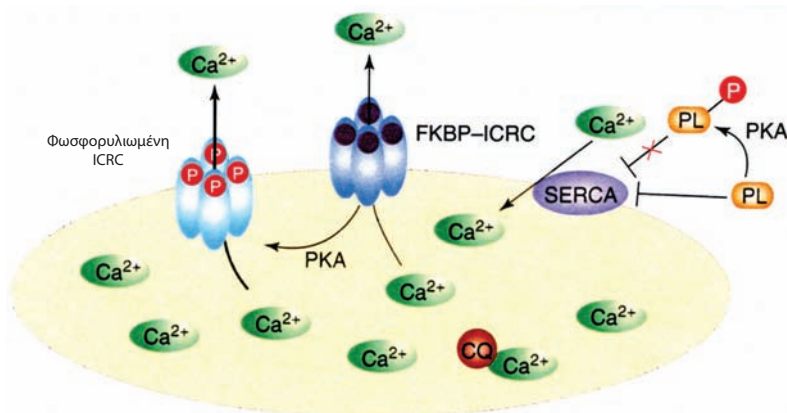


**Εικόνα 8.5: Μηχανισμοί που ρυθμίζουν την έξοδο των  $Ca^{2+}$  από το σαρκοπλασματικό δίκτυο δια των διαύλων της ρυανοδίνης.**

Δύο μηχανισμοί περιορίζουν τη διέγερση των υποδοχών της ρυανοδίνης. Η ανασταλτική δράση της πρωτεΐνης FKBP (FK Binding Protein) και η πρόσδεση σε αυτούς μίας άλλης πρωτεΐνης, της σορσίνης. Η φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης FKBP αποσταθεροποιεί τους υποδοχείς αυτούς γιατί οδηγεί σε απομάκρυνση της ρυθμιστικής αυτής πρωτεΐνης από τους αντίστοιχους διαύλους, με αποτέλεσμα την αυξημένη έξοδο  $Ca^{2+}$ . Παράλληλα, η αύξηση του ελεύθερου ενδοκυττάριου  $Ca^{2+}$  αποφωσφορυλιώνει τη σορσίνη, η οποία με τη σειρά της μετακινείται προς τη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου και απενεργοποιεί τους υποδοχείς της ρυανοδίνης. Η ελάττωση του ελεύθερου ενδοκυττάριου  $Ca^{2+}$  προκαλεί την απομάκρυνση της σορσίνης και την εκ νέου αδρανοποίησή της με φωσφορυλίωση. Ανάλογες φωσφορυλίωσεις προκαλεί και η PKA (Protein Kinase A), η οποία, μεταξύ άλλων, ενεργοποιείται ύστερα από τη διέγερση των β-αδρενεργικών υποδοχών της κυτταρικής μεμβράνης.

*Trends Pharmacol. Sci. (1997)*

Η β αδρενεργική διέγερση επιστρατεύοντας σαρκειλημματικούς διαύλους L αυξάνει την είσοδο  $Ca^{2+}$  κατά τη φάση της συστολής, κατόπιν δε ισχυροποιώντας τους αντλητικούς μηχανισμούς του σαρκοπλασματικού δικτύου κατά τη φάση της χάλασης συγκρατεί το αθρόως εισελθόν  $Ca^{+2}$  και το έχει διαθέσιμο για απελευθέρωση στις επόμενες συστολές. Η αναστολή της β διέγερσης, μειώνοντας την είσοδο  $Ca^{+2}$  στο μυοκύτταρο αλλά και τη σύλληψη του  $Ca^{+2}$  από το σαρκοπλασματικό δίκτυο επιτρέπει την εκδίωξή του δια των σαρκειλημματικών αντλιών και μειώνει το ποσό του διαθέσιμου ιόντος.

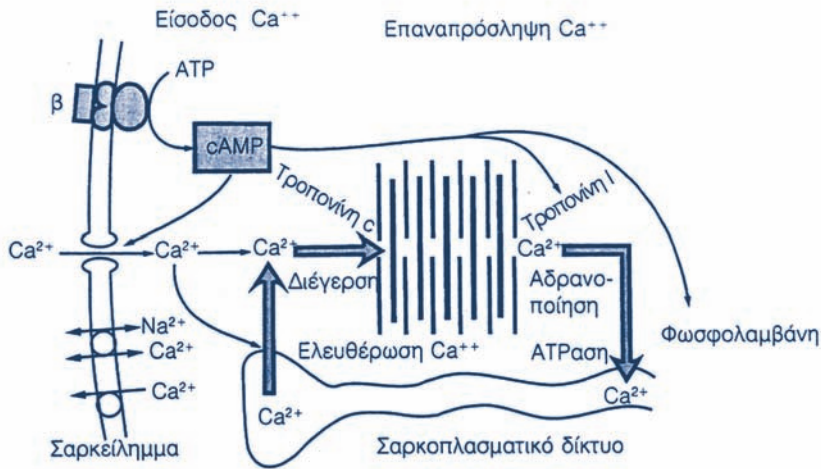


**Εικόνα 8.6: Μηχανισμοί εισόδου και εξόδου των  $\text{Ca}^{2+}$  από το σαρκοπλάσματικό δίκτυο.** Κατά τη φάση που προηγείται της διαστολής, τα  $\text{Ca}^{2+}$  με τη βοήθεια αντλιών αφενός εξέρχονται προς τον εξωκυττάριο χώρο, αφετέρου περνούν προς το σαρκοπλάσματικό δίκτυο. Το τελευταίο γίνεται με τη βοήθεια της αντλίας SERCA  $\text{Ca}^{2+}$  - ATP αση (Sarco (endo) plasmic Reticulum Calcium-ATPase). Μια πρωτεΐνη, η φωσφολαμβάνη (PL: Phospholamban), δρα ανασταλτικά στην αντλία αυτή. Η φωσφορυλίωση της φωσφολαμβάνης έχει ως αποτέλεσμα την αδρανοποίησή της και την ως εκ τούτου ομαλή λειτουργία της αντλίας αυτής. Κατά τη φάση που προηγείται της συστολής, η φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης FKBP (FK Binding Protein) των διαύλων ICRC (Intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  Releasing Channels: Ενδοκυττάριο διάλυοι που απελευθερώνουν  $\text{Ca}^{2+}$ ) του σαρκοπλάσματικού δικτύου προάγει την έξοδο των ιόντων αυτών προς το κυτταρόπλασμα. Ανάλογες φωσφορυλιώσεις προκαλεί και η PKA (Protein Kinase A) η οποία, μεταξύ άλλων, ενεργοποιείται ύστερα από τη διέγερση των β-αδρενεργικών υποδοχέων της κυτταρικής μεμβράνης.  
*Trends Pharmacol. Sci.* 22 (2001)

### **Επιδράσεις του $\text{TNF-}\alpha$ στους ρυθμιστικούς ρόλους των $\text{Ca}^{2+}$ στα μυοκαρδιακά κύτταρα**

Ο παράγοντας  $\text{TNF-}\alpha$  τροποποιεί τη μυοκαρδιακή λειτουργία με δύο τουλάχιστον διαφορετικούς τρόπους. Έναν άμεσο που εκδηλώνεται εντός ολίγων λεπτών και έναν καθυστερημένο που εκδηλώνεται μετά από ώρες ή ημέρες. Το άμεσο αποτέλεσμα σχετίζεται με διαταραχές της ενδοκυττάριας ομοιόστασης του  $\text{Ca}^{2+}$  λόγω μείωσης της ικανότητας του σαρκοπλάσματικού δικτύου να διαχειρίζεται τον ίδιο αυτό. Ο  $\text{TNF-}\alpha$  ενεργοποιεί βιοχημικές δραστηριότητες ελεγχόμενες από την ουδέτερη σφινγομυελινάση. Η υδρόλυση της σφινγομυελίνης των μεμβρανών προς παραγωγή κεραμιδίνης και εξ αυτής σφινγοσίνης μέσω του ενζύμου κεραμιδάση, έχει ως συνέπεια το προϊόν αυτό να αναστέλλει την απελευθέρωση του  $\text{Ca}^{2+}$  από το σαρκοπλάσματικό δίκτυο λόγω αποκλεισμού των υποδοχέων της ρυανοδίνης. Τούτο συμβαίνει τόσο στους σκελετικούς μυς όσο και στο μυοκάρδιο (33).

Ο καθυστερημένος τρόπος δράσης αποδίδεται σε αναστρέψιμη άμβλυν-



**Εικόνα 8.7: Μηχανισμοί διακίνησης των  $\text{Ca}^{2+}$  στην καρδιακή μυϊκή ίνα μετά από διέγερση των  $\beta_1$ -αδρενεργικών υποδοχέων.** Τα  $\text{Ca}^{2+}$  εισέρχονται στο κυτταρόπλασμα τόσο από διαύλους της κυτταρικής μεμβράνης όσο και από το σαρκοπλασματικό δίκτυο. Καθώς συνδέονται με την τροπονίνη C προάγουν τη σύνδεση των γεφυρών της μυοσίνης με την ακτίνη με αποτέλεσμα τη συστολή. Κατά τη φάση που προηγείται της συστολής, η PKA που ενεργοποιείται από την cAMP φωσφορυλιώνει τους δυναμικοεαίσθητους διαύλους της κυτταρικής μεμβράνης προάγοντας την είσοδο των  $\text{Ca}^{2+}$ . Κατά τη φάση που προηγείται της διαστολής, η PKA φωσφορυλιώνει την τροπονίνη I με αποτέλεσμα την αποσύνδεση των ιόντων αυτών από τις συσταλτικές πρωτεΐνες. Στη συνέχεια τα  $\text{Ca}^{2+}$  αφενός επαναπρολαμβάνονται από το σαρκοπλασματικό δίκτυο λόγω αδυναμίας ανασταλτικής παρεμβολής της φωσφολαμβάνης (PL) η οποία αδρανοποιείται φωσφορυλιούμενη επίσης από την PKA αφετέρου περνούν προς τον εξωκυττάριο χώρο ανταλλάσσόμενα με  $\text{Na}^+$ .  
Καστελλάνος Στ.: *Καρδιακή ανεπάρκεια* (2001)

ση του ινότροπου αποτελέσματος της  $\beta$ -αδρενεργικής διέγερσης. Υπαίτια θεωρείται η αθρόα παραγωγή NO κατόπιν πλειορρύθμισης της επαγόμενης συνθετάσης (iNOS) από τον TNF- $\alpha$ . Το υπερπαραγόμενο NO αναστέλλει την παραγωγή cAMP όταν προκαλείται  $\beta$ -αδρενεργική διέγερση, και αυτό γιατί προκαλεί έκπτωση της λειτουργίας της  $G_s$  πρωτεΐνης. Επίσης, το NO διεγείρει στα καρδιομυοκύτταρα τη γουανυλική κυκλάση με αποτέλεσμα την αύξηση των επιπέδων της cGMP. Η τελευταία αναστέλλει τα εσωστρεφή ρεύματα του  $\text{Ca}^{2+}$  που ενεργοποιούνται από την cGMP κινάση. Με τους μηχανισμούς αυτούς μειώνεται η διαθεσιμότητα των ιόντων αυτών κατά τη συστολή. Η cGMP ενεργοποιεί επιπρόσθετα τη φωσφοδιεστεράση (PDEII) της cAMP επιταχύνοντας την αποικοδόμηση της cAMP που αποτελώντας ενδοκυττάριο μεσολαβητή της  $\beta$ -αδρενεργικής διέγερσης αυξάνει κανονικά τη διαθεσιμότητα των διαύλων του  $\text{Ca}^{2+}$  και τη δραστηριότητα των αντλιών του ίδιου ιόντος στο σαρκοπλασματικό δίκτυο (1,33-35).

### **Επιδράσεις του TNF-α σε άλλους μεταβολικούς δρόμους στα μυοκαρδιακά κύτταρα**

Έχει διαπιστωθεί ότι ο TNF-α πέραν του γεγονότος ότι διεγείρει την NADPH οξειδοαναγωγή με ό,τι συνεπάγεται η ενέργεια αυτή για την ανάπτυξη του οξειδωτικού στρες, συγχρόνως έχει και αρνητική δράση στην έκφραση της δομικής eNOS και αυτό σε αντίθεση με ό,τι συμβαίνει με την iNOS. Ο μηχανισμός δράσης του TNF-α οφείλεται στην ενεργοποίηση της EDIP (Endothelium Disfunctional Inductor Protein: πρωτεΐνη επάγουσα την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία), η οποία με τη σειρά της ενώνεται με την 3'-UTR του eNOSmRNA και ελαττώνει την ημιπερίοδο ζωής του τελευταίου. Ως γνωστόν, η eNOS υπάρχει εκτός από το ενδοθήλιο των στεφανιαίων αγγείων, και στο ενδοκάρδιο, στα μυοκαρδιακά κύτταρα, στα κύτταρα του αγωγού δεματίου καθώς επίσης και στα κυκλοφορούντα ουδετερόφιλα και αιμοπετάλια (36).

Ο παράγοντας TNF-α συμβάλλει στη δημιουργία αντίστασης στην ινσουλίνη σε διάφορους τύπους κυττάρων και αυτό γίνεται με διάφορους μηχανισμούς. Όπως προκύπτει από πειράματα σε ζώα που δεν έχουν αποδειχθεί προς το παρόν στον άνθρωπο, ο TNF-α αυξάνει την έκφραση και την ενεργότητα της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης. Ενδέχεται η υπό του παράγοντα αυτού δραστηριοποίηση της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης στο ανεπαρκές μυοκάρδιο να οδηγεί σε αύξηση της προσφοράς σε αυτό ελεύθερων λιπαρών οξέων που προέρχονται από τα τριγλυκερίδια. Ο καταβολισμός των τελευταίων δρα ανταγωνιστικά προς τη γλυκόζη. Αυτό έχει δυσμενείς επιπτώσεις στο μυοκάρδιο και στα κύτταρα γενικά, διότι ο καταβολισμός των ελεύθερων λιπαρών οξέων αυξάνει τις απαιτήσεις του μυοκαρδίου σε οξυγόνο. Παράλληλα, ο TNF-α παρεμβάλλεται στη δράση της ινσουλίνης εμποδίζοντας την είσοδο της γλυκόζης στους περιφερειακούς ιστούς. Η αυξημένη κυκλοφορία ελεύθερων λιπαρών οξέων και η επίσης αυξημένη παραγωγή οξειδωτικών ριζών τις οποίες ο παράγοντας αυτός προκαλεί, συμβάλλουν στην απευαισθητοποίηση των υποδοχέων της ινσουλίνης (1,33,37).

### **ΣΧΕΣΗ ΦΛΕΓΜΟΝΟΓΟΝΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΚΗΣ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑΣ**

Σύμφωνα με την «υπόθεση των κυτταροκινών», η υπερέκφραση των ουσιών αυτών συμβάλλει στην πρόοδο της καρδιακής ανεπάρκειας εφόσον έχει εκκινήσει η δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας. (36,38,39)

Οι ενδεχόμενες ανεπιθύμητες ενέργειες του TNF-α επί καρδιακής ανεπάρκειας είναι η δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας, η καρδιομυοπάθεια, η αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας (remodeling), οι μυοκαρδιακές



μεταβολικές διαταραχές, η αποσύνδεση των β-αδρενεργικών υποδοχέων από την αδενυλοκυκλάση, οι διαταραχές της λειτουργίας των μιτοχονδρίων, η ενεργοποίηση εμβρυϊκών γονιδίων, η απόπτωση των μυοκαρδιακών κυττάρων και η μείωση της άρδευσης των σκελετικών μυών. Συνοδά επίσης φαινόμενα αποτελούν η ανορεξία και η καχεξία, το πνευμονικό οίδημα και τα θρομβοεμβολικά επεισόδια (26,33,40,41).

Ο TNF-α και η IL-6 είναι τουλάχιστον δύο από τις κυριότερες κυτταροκίνες που ανιχνεύονται αυξημένες στην κυκλοφορία σε κατάσταση καρδιακής ανεπάρκειας. Αντίθετα η IL-1 σε λίγες μελέτες έχει ανιχνευθεί στην κυκλοφορία. Δεν πρέπει όμως να λησμονείται ότι πρόκειται για μία κυτταροκίνη με αυτοκρινείς, παρακρινείς και εσωκρινείς (intracrine) ιδιότητες. Οι τελευταίες ιδιότητες οφείλονται στην παρουσία εσωτερικών υποδοχέων. Επίσης επί καρδιακής ανεπάρκειας παρατηρείται αύξηση στην κυκλοφορία των υποδοχέων sTNF-R1, sTNF-R2, IL-1Ra και IL-6R (1,42).

Ο τόπος σύνθεσης των κυτταροκινών κατά την καρδιακή ανεπάρκεια δεν είναι γνωστός, πλην όμως είναι γνωστό ότι το μυοκάρδιο είναι σε θέση να συνθέτει τον TNF-α, την IL-1 και την IL-6, όταν δέχεται διάφορα ερεθίσματα. Επίσης το TNF- mRNA και η αντίστοιχη πρωτεΐνη έχουν ανιχνευθεί στο μυοκάρδιο σε κατάσταση ανεπάρκειας, όχι όμως και στο υγιές. Πιστεύεται ότι τόσο το TNF-α mRNA όσο και η αντίστοιχη πρωτεΐνη TNF-α είναι αυτοπεριοριζόμενα. Η αύξηση της IL-6 οφείλεται προφανώς σε γονιδιακή διέγερση από τον TNF-α. Η αύξηση των κυκλοφορούντων φλεγμονογόνων κυτταροκινών μπορεί να οφείλεται και σε ελαττωμένο καταβολισμό αυτών λόγω δέσμευσής τους από τους sTNF-R1 και sTNF-R2 που αυξάνονται στο τριπλάσιο κατά την καρδιακή ανεπάρκεια. Τέλος, η κύρια πηγή σύνθεσης δεν είναι κατ' ανάγκη το μυοκάρδιο αλλά άλλες πηγές όπως τα μονοκύτταρα του αίματος ή άλλοι χώροι ανεξάρτητα από το πού εκκινεί το αρχικό ερέθισμα (1,42,43).

Σήμερα υπάρχουν τέσσερις υποθέσεις που αφορούν τον τόπο και τις αιτίες σύνθεσης των κυτταροκινών σε σχέση με την καρδιακή ανεπάρκεια, οι οποίες βασίζονται σε διάφορα ευρήματα:

1. Σύνθεση από το ανοσοποιητικό σύστημα σε απάντηση ιστικού τραυματισμού ή άλλου άγνωστου ερεθίσματος (3, 44,45).
2. Σύνθεση από το μυοκάρδιο κάτω από διάφορα στρες και διάχυση αυτών προς την κυκλοφορία με πιθανότητα διέγερσης και του ανοσιακού συστήματος από αυτές (46,47).
3. Σύνθεση από περιφερειακούς μεταβολικούς ιστούς ως συνέπεια ανεπαρκούς αιμάτωσης (48).
4. Αυξημένη απορρόφηση ενδοτοξινών από τον εντερικό σωλήνα λόγω στάσης και διάτασης των μεσεντερίων αγγείων και εν συνεχεία διέγερση του ανοσοποιητικού (49).

Αυξημένα επίπεδα των φλεγμονογόνων κυτταροκινών μπορούν να συν-

δυναθούν με την πρόγνωση της καρδιακής ανεπάρκειας, αν και δεν είναι γνωστό ποια από τις κυτταροκίνες αυτές είναι ο καλύτερος δείκτης. Υπάρχουν ενδείξεις ότι ο sTNF-R2 έχει κάποια προγνωστική αξία (42).

Επί καρδιακής ανεπάρκειας, παρά την αύξηση των επιπέδων του TNF-α στο πλάσμα, ανευρίσκεται μείωση των υποδοχέων του παράγοντα αυτού στην επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης στην καρδιά. Τούτο πιθανώς να απηχεί αντιρροπιστική προσπάθεια άμυνας των μυοκαρδιακών κυττάρων έναντι της καταχρηστικής επίδρασης του TNF-α και προστασίας της συστατικότητάς τους απέναντι στην αρνητική ινóτροπη δράση που ο τελευταίος ασκεί. Η παράλληλη αύξηση στο πλάσμα των διαλυτών υποδοχέων, για την οποία έγινε ήδη αναφορά, αποσκοπεί στην εξουδετέρωση του εν λόγω παράγοντα εντός της κυκλοφορίας, πριν αυτός προσεγγίσει τους κυτταρικούς στόχους. Ο μηχανισμός όμως αυτός έχει και όρια κορεσμού και ο ρόλος των υποδοχέων αυτών δεν είναι πάντα προστατευτικός. Υποστηρίζεται ότι εκτός από την αρχική εξουδετερωτική δράση τους με τη δέσμευση του TNF-α επ' αυτών, σταθεροποιούν την ομοτριμερή μορφή του παράγοντα αυτού που διαφορετικά, παραμένοντας αδέσμευτος, διασπάται σε λειτουργικά αδρανή μονομερή. Τοιουτοτρόπως, ενώ αρχικά οι κυκλοφορούντες υποδοχείς sTNFR προσφέρουν προστασία, ωστόσο μακροπρόθεσμα ενεργούν δυσπροσαρμοστικά διότι αποδίδουν βραδέως στην κυκλοφορία τον σταθεροποιημένο TNF-α. Το γεγονός αυτό έχει κλινικά επιβεβαιωθεί σε νοσηλευόμενους με καρδιακή ανεπάρκεια, στους οποίους τα υψηλά επίπεδα των κυκλοφορούντων υποδοχέων έχουν, όπως ήδη προαναφέρθηκε, συνδεθεί με δυσμενή έκβαση (1,33).

Επίσης, παραμένει χωρίς ανταγωνισμό η δράση του υπερπαραγόμενου ιστικού παράγοντα TNF-α, του οποίου η συμμετοχή στην παθογένεια της μυοκαρδιακής δυσλειτουργίας και της καρδιακής ανεπάρκειας δεν αμφισβητείται (50).

Όπως ήδη έχει αναφερθεί, τα επίπεδα του TNF-α στο πλάσμα ανευρίσκονται αυξημένα επί καρδιακής ανεπάρκειας και το φαινόμενο αυτό συνδυάζεται με την εξέλιξη της μυοκαρδιακής ίνωσης και αναδιαμόρφωσης, με τη μείωση του πλάσματος εξώθησης της αριστερής κοιλίας αλλά και με συστηματικές εκδηλώσεις όπως είναι η ελάττωση ισχύος των σκελετικών ινών. Η ελάττωση αυτή οφείλεται στη μείωση της σύνθεσης και στην επίταση του καταβολισμού των πρωτεϊνών η οποία οδηγεί στην εικόνα της –ούτω αποκαλουμένης- καρδιακής καχεξίας (50).

Οι φλεγμονογόνες κυτταροκίνες συνδέονται, όπως επίσης αναφέρθηκε, και με το φαινόμενο της αναδιαμόρφωσης. Με τον όρο αυτό εννοούμε τις μεταβολές σχήματος, μεγέθους και σύνθεσης του μυοκαρδίου κατά την καρδιακή ανεπάρκεια, η οποία δεν οφείλεται σε αύξηση των σαρκομερίων λόγω προφόρτισης.

Στα πλαίσια της καρδιακής ανεπάρκειας, ο TNF-α συμβάλλει στη δυσμενή αναδιαμόρφωση των κοιλιών. Ιδιαίτερα στα προχωρημένα στάδια καρδιακής ανεπάρκειας, ο TNF-α πυροδοτεί την απόπτωση των μυοκαρδιακών κυττάρων. Τόσο σε πειραματόζωα όσο και σε εθελοντές ανθρώπους έχει διαπιστωθεί ότι η χορήγηση του TNF-α ή ενδοτοξίνης προς διέγερση ενδογενούς παραγωγής του TNF-α οδηγεί εντός ολίγων ωρών σε διεύρυνση της αριστερής κοιλίας, χωρίς να έχουν προηγηθεί μεταβολές στην προφόρτιση ή την υστεροφόρτιση. Οι διασυνδέσεις της διεύρυνσης των κοιλιών προς την αύξηση σύνθεσης του TNF-α επί καταστάσεων που οδηγούν σε καρδιακή ανεπάρκεια είναι ποικίλες. Από τις πλέον σημαντικές φαίνεται ότι είναι η ενεργοποίηση διαφόρων μεταλλοπρωτεϊνών. Μέσω των τελευταίων διαλύεται ο ιστός από κολλαγόνο I που περιβάλλει τις μυοκαρδιακές ίνες και τις συνδέει μεταξύ τους. Τοιουτοτρόπως, υπό την επίδραση της ενδοκοιλιακής πίεσης καθίσταται δυνατή η διεύρυνση των κοιλιών μέσω πλάγιας διολίσθησης των μυοκαρδιακών δεσμίδων και ινών. Ταυτόχρονα, μειώνεται και η αλληλοϋποστήριξη στην ανάπτυξη της ενδοκοιλιακής πίεσης, ενώ η αύξηση των διαμέτρων της κοιλίας ανυψώνει την τάση που πρέπει να αναπτυχθεί και την ισχύ που πρέπει να καταβληθεί, προκειμένου να αναπτυχθεί η πρότερη πίεση. Άλλωστε και η μείωση των μηχανικών εκ του κολλαγόνου I συνδέσμων μεταξύ μυϊκών ινών δυσχεραίνει τη συντεταγμένη μετάδοση των επί μέρους εξασκούμενων δυνάμεων και την ολοκλήρωση του αποτελέσματος (33).

Ανακεφαλαιώνοντας την επίδραση του TNF-α επί της αναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας, αναφέρουμε τις μεταβολές στη βιολογία των μυοκυττάρων, όπως είναι η υπερτροφία, τις διαταραχές της συσταλτικότητας και την έκφραση εμβρυϊκών γονιδίων που κωδικοποιούν τη σύνθεση λειτουργικών υποδεών πρωτεϊνών, κυρίως δε των συσταλών τοιούτων σε αντικατάσταση των φθιρομένων εκ της λειτουργίας, την προοδευτική απώλεια μυοκυττάρων λόγω νέκρωσης ή απόπτωσης και τις μεταβολές της εξωκυττάριας ουσίας, όπως είναι η αποικοδόμηση και η αναπληρωματική ίνωση (33).

Πέραν της δευτεροπαθούς αύξησης του TNF-α επί καρδιακής ανεπάρκειας, πρέπει να επισημανθεί ότι ο παράγοντας αυτός έχει χαρακτηριστεί ως ύποπτος διασύνδεσης με την παθολογία τόσο της ιδιοπαθούς διατατικής όσο και της υπερτροφικής μυοκαρδιοπάθειας. Η διασύνδεση αυτή πιθανολογείται από το γεγονός ότι τα γονίδια που κωδικοποιούν τους παράγοντες TNF-α και TNF-β ευρίσκονται εντός της περιοχής του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας, ενώ είναι γνωστό ότι οι δύο προαναφερθείσες μυοκαρδιοπάθειες συνδέονται με αυτό και ειδικότερα η διατατική καρδιομυοπάθεια με το HLA-DQW4 και η οικογενής υπερτροφική καρδιοπάθεια με το HLA-DR4 (33).

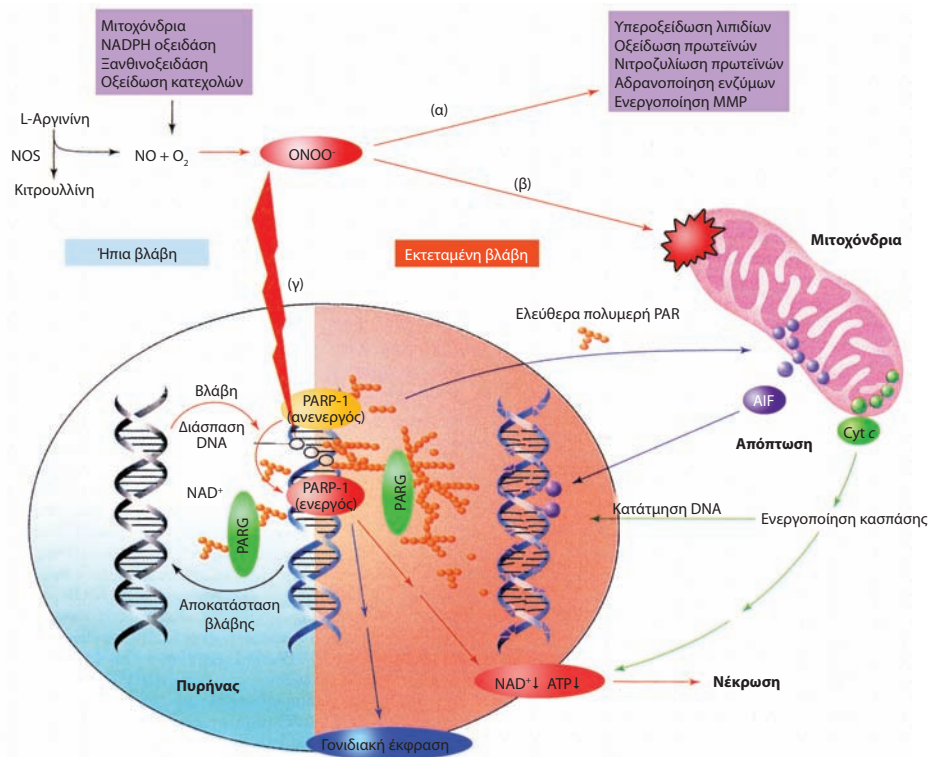
Η καρδιακή καχεξία δεν είναι η μόνη αιτία της ελαττωμένης απόδοσης του καρδιακού μυός. Υπάρχουν και λειτουργικοί λόγοι. Οι φλεγμονογόνες κυτταροκίνες και κυρίως ο TNF- $\alpha$  προκαλούν άμεση και καθυστερημένη αρνητική ινότροπη δράση στην καρδιά, διότι κινητοποιούν πολλαπλά βιοχημικά σήματα τα οποία έχουν ήδη αναφερθεί. Έχουν προταθεί δύο μηχανισμοί με τους οποίους επιχειρείται να ερμηνευτεί η άμεση ενέργεια (1).

Ο πρώτος μηχανισμός αποδίδει την ενέργεια αυτή σε επιτάχυνση της δράσης της cNOS και αυξημένη παραγωγή NO. Παράλληλα, ο TNF- $\alpha$  συμμετέχει στην επαγωγή της έκφρασης και της iNOS. Το υπερπαραγόμενο NO, με τη σειρά του, προκαλεί αρνητική ινότροπη ενέργεια, χωρίς αυτό να έχει αποδειχθεί πλήρως. Η άποψη είναι ότι στα ανεπαρκούντα μυϊκά κύτταρα η καταχρηστική αύξηση του NO εξασθενεί τη θετική ινότροπη απάντηση στη  $\beta$ -αδρενεργική διέγερση (1,33,51).

Παράλληλα, η αντίδραση των υπερπαραγόμενων μορίων του NO και των οξειδωτικών ριζών οδηγεί στην αθρόα σύνθεση της ρίζας του υπεροξεινιτρώδους και κατ' επέκταση σε κατάσταση νιτροξειδούς στρες (nitrosative stress). Η ρίζα του υπεροξεινιτρώδους προκαλεί, μεταξύ άλλων, την υπεροξείδωση λιπιδίων και πρωτεϊνών, τη νιτροζυλίωση πρωτεϊνών, την αδρανοποίηση ενζύμων και την ενεργοποίηση των μεταλλοπρωτεϊνών. Επίσης ελαττώνει το δυναμικό στη μεμβράνη των μιτοχονδρίων, γεγονός που προκαλεί την απελευθέρωση προαποπτωτικών παραγόντων όπως είναι το κυττόχρωμα c και ο παράγοντας AIF (Apoptosis Induced Factor). Οι παράγοντες αυτοί κινητοποιούν αποπτωτικές οδούς που άλλες εξαρτώνται από τις κασπάσες και άλλες όχι. Επίσης, η ίδια ρίζα προάγει την ενεργοποίηση της πολύ (ADP-ριβόζο) πολυμεράσης ή PARP1. Η τελευταία κινητοποιεί ενεργοβόρους μηχανισμούς μεταφέροντας από τη NAD<sup>+</sup> προς πυρηνικές πρωτεΐνες μονάδες ADP-ριβόζης. Το αποτέλεσμα είναι η ταχεία ελάττωση των ενδοκυττάρων αποθεμάτων της NAD<sup>+</sup> και της ATP, με αποτέλεσμα τον μειωμένο ρυθμό γλυκόλυσης και την επίσης μειωμένη μιτοχονδριακή αναπνοή. Οι μεταβολές αυτές οδηγούν στην κυτταρική δυσλειτουργία και στον κυτταρικό θάνατο. Επίσης, η PARP1 προάγει τη γονιδιακή έκφραση πολλών μεσολαβητών της φλεγμονής επιτείνοντας τον φαύλο κύκλο (52).

Ο δεύτερος μηχανισμός, ο οποίος ανεπτύχθη ήδη επαρκώς, αποδίδει την ενέργεια σε υδρόλυση της σφίγγομυελίνης στην κυτταρική μεμβράνη και σε σχηματισμό της κεραμίδης η οποία απακετυλιούται προς σφίγγοσίνη η οποία αποκλείει, με τη σειρά της, τους υποδοχείς της ρυανοδίνης στο ενδοπλασματικό δίκτυο, με αποτέλεσμα την παρεμπόδιση της εξόδου προς το κυτταρόπλασμα του Ca<sup>2+</sup> (7,53).

Σε ανακεφαλαίωση των όσων αναφέρθηκαν, διαπιστώνουμε ότι οι κυτταροκίνες αυτές προκαλούν υπερτροφία των καρδιακών μυϊκών ινών, διαταραχές στη σύσπαση αυτών, έκφραση των εμβρυϊκών γονιδίων, απώλεια



**Εικόνα 8.8: Προτεινόμενοι μηχανισμοί βλάβης και κυτταρικού θανάτου κατά την εξέλιξη του νιτροξειδωτικού στρες.** Η συντιθέμενη ρίζα του υπεροξεινιτρώδους (ONOO<sup>-</sup>) συνεπεία της υπερπαραγωγής NO και του οξειδωτικού στρες προκαλεί: **(α)** την υπεροξειδωση λιπιδίων και πρωτεϊνών, τη νιτροζυλίωση πρωτεϊνών, την αδρανοποίηση ενζύμων και την ενεργοποίηση μεταλλοπρωτεϊνών (MMP). **(β)** Ελαττώνει το δυναμικό (ΔΨ) στη μεμβράνη των μιτοχονδρίων γεγονός που προκαλεί την απελευθέρωση προαποπτωτικών παραγόντων όπως είναι το κυττόχρωμα c (Cyt c) και ο παράγοντας που προάγει την απόπτωση (AIF: Apoptosis Induced Factor). Οι παράγοντες αυτοί κινητοποιούν αποπτωτικές οδούς που άλλες εξαρτώνται από τις κασπάσες και άλλες όχι. **(γ)** Προάγει την ενεργοποίηση της πολύ (ADP-ριβόζο) πολυμεράσης ή PARP1. Η τελευταία κινητοποιεί ενεργοβόρους μηχανισμούς μεταφέροντας από τη NAD<sup>+</sup> προς πυρηνικές πρωτεΐνες μονάδες ADP-ριβόζης (μικρές πορτοκαλί σφαίρες). Παράλληλα, η PARG (Poly-ADP-Ribose-Glycohydrolase) διασπά την PARP1 σε ελεύθερα πολυμερή PARs. Το αποτέλεσμα όλων αυτών των αντιδράσεων είναι η ταχεία ελάττωση των ενδοκυττάριων αποθεμάτων της NAD<sup>+</sup> και της ATP, με αποτέλεσμα τον μειωμένο ρυθμό γλυκόλυσης και την επίσης μειωμένη μιτοχονδριακή αναπνοή. Οι μεταβολές αυτές οδηγούν στην κυτταρική δυσλειτουργία και στον κυτταρικό θάνατο. Επίσης, η PARP1 προάγει τη γονιδιακή έκφραση πολλών μεσολαβητών της φλεγμονής δημιουργώντας έναν φαύλο κύκλο. *Trends Pharmacol. Sci.* 26 (2005)

προοδευτική των μυϊκών ινών κυρίως μέσω του μηχανισμού της απόπτωσης. Επίσης λόγω διέγερσης των μεταλλοπρωτεϊνών υπάρχει λύση του κολλαγόνου που περιβάλλει και συνδέει τα μυϊκά κύτταρα, με αποτέλεσμα την απώλεια της ανάπτυξης ισχύος στην καρδιά (force development in the heart) και την ανακατανομή των δεσμών των μυϊκών κυττάρων, καθώς αυτά γλιστρούν, ενώ παράλληλα αυξάνει η ίνωση (1,54).

### **ΟΙ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ ΩΣ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΟΣ ΣΤΟΧΟΣ**

Υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι η ελάττωση του επιπέδου ή της δραστηριότητας των κυτταροκινών θα έχει ευεργετικά αποτελέσματα, στην πρόοδο της νόσου. Ανακεφαλαιώνοντας όσα αναπτύχθηκαν στις γραμμές που προηγήθηκαν καταλήγουμε στα παρακάτω συμπεράσματα τα οποία θεμελιώνουν και τις προϋποθέσεις για φαρμακολογικές παρεμβάσεις (36,46,47,55)

Τόσο το TNF- $\alpha$ mRNA όσο και η αντίστοιχη πρωτεΐνη TNF- $\alpha$  δεν εκφράζονται δομικά στη μη προκληθείσα καρδιά του ενήλικα.

Αμφότερα το TNF- $\alpha$  mRNA και η αντίστοιχη πρωτεΐνη TNF- $\alpha$  συντίθενται ταχύτατα από την καρδιά σε απάντηση προκλήσεων.

Τα επίπεδα του TNF- $\alpha$  mRNA του μυοκαρδίου γυρίζουν στη βασική γραμμή, μόλις φύγει το προκαλούν ερέθισμα.

Με βάση τα συμπεράσματα αυτά οι φαρμακολογικοί στόχοι μπορούν να προσδιορισθούν ως εξής: (1,4,17)

Αποκλεισμός των υποδοχέων των ουσιών που διεγείρουν τη σύνθεση των κυτταροκινών

Αποκλεισμός της έκφρασης του γονιδίου που κωδικοποιεί τον TNF- $\alpha$

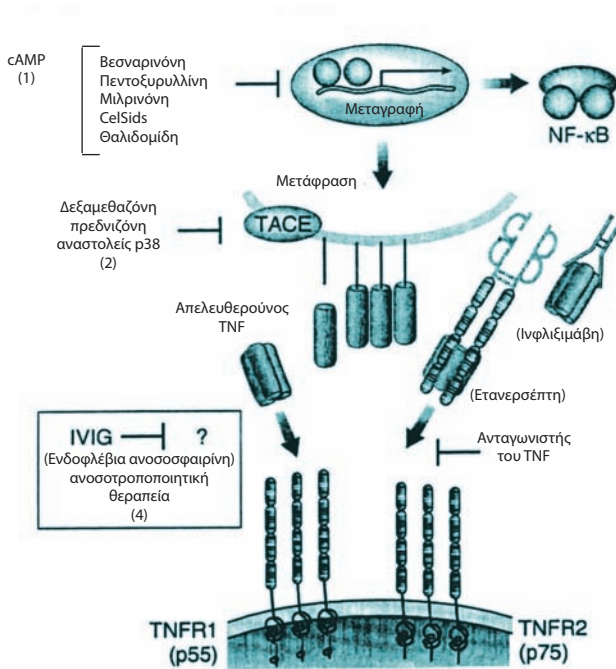
Επιτάχυνση της διάσπασης του TNF- $\alpha$  mRNA

Αναστολή της εξέλιξης των προδρόμων μορφών των κυτταροκινών

Ανταγωνισμός της δράσης του TNF- $\alpha$

Από τα μέχρι τούδε πειράματα σε ζώα αλλά και από κλινικές παρατηρήσεις έχει διαπιστωθεί ότι: (1,17,36,56-69)

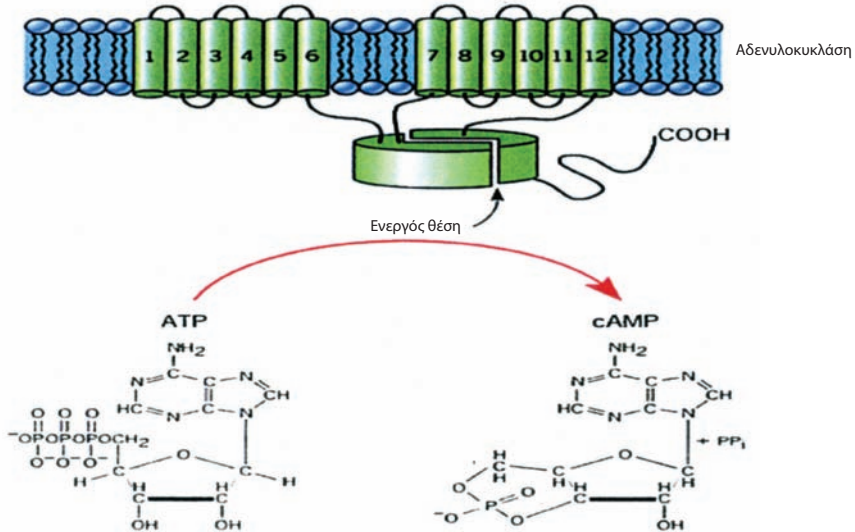
1. Ουσίες οι οποίες αυξάνουν την cAMP, όπως οι αναστολείς της φωσφοδιεστεράσης πεντοξυφιλίνη, αμρινόνη, μιλρινόνη, αλλά και ουσίες που διεγείρουν τη σύνθεση του παραπάνω κυκλικού νουκλεοτιδίου, όπως η δοβουταμίνη και η αδενοσίνη, εμποδίζουν τη μεταγραφή του TNF- $\alpha$  αναστέλλοντας τη σύνθεση του TNF- $\alpha$  mRNA
2. Η δεξαμεθαζόνη αναστέλει τη σύνθεση του TNF- $\alpha$  δρώντας τόσο στο επίπεδο μεταγραφής του αντίστοιχου γονιδίου όσο και στο επίπεδο μετάφρασης, δηλαδή της σύνθεσης της αντίστοιχης πρωτεΐνης. Ειδικότερα για τα γλυκοκορτικοειδή θα πρέπει να αναφερθεί ότι ασκούν ανασταλ-



**Εικόνα 8.9: Θεραπευτικές στρατηγικές ανταγωνισμού των φλεγμονογόνων κυτταροκινών.** Η μεταγραφή του γονιδίου που κωδικοποιεί τον TNF- $\alpha$  μεθοδεύεται εν μέρει από τον μεταγραφικό παράγοντα NF- $\kappa$ B. Ουσίες που αυξάνουν τα ενδοκυττάρια επίπεδα της cAMP, όπως η βεσαρινόνη, η πεντοξυφυλλίνη, η μιλρινόνη, η θαλιδομίδη και τα ανάλογα της θαλιδομιδής (CellSids), ελαττώνουν τα επίπεδα των φλεγμονογόνων κυτταροκινών μπλοκάροντας τη μεταγραφική έκφραση των αντίστοιχων γονιδίων. Ουσίες όπως η δεξαμεθαζόνη και η πρεδνιζόνη και ορισμένοι αναστολείς του p38 καταστέλλουν τη φλεγμονή αναστέλλοντας στο επίπεδο της μετάφρασης την έκφραση των ως άνω γονιδίων. Διαλυτοί αναστολείς του TNF- $\alpha$ , όπως η ετανερσέπτη, ή εξουδετερωτικά αντισώματα, όπως η ινφλιξιμάβη, εμποδίζουν την κυτταροκίνη αυτή να συνδεθεί με τους υποδοχείς της TNFR1 (p55) και TNFR2 (p75). Επιπλέον, ανοσοστροποποιητικές στρατηγικές μπορούν να πραγματοποιηθούν με την ενδοφλέβια χορήγηση ανοσοσφαιρίνης G (IVIG: Intravenous Immunoglobulin G) και αίματος που έχει ακτινοβοληθεί.

*Mann D.: Heart Failure (2004)*

τικές ενέργειες που αφορούν τη σύνθεση και απελευθέρωση ενός μεγάλου αριθμού κυτταροκινών, όπως είναι οι ιντερλευκίνες IL-1, IL-2, IL-3, IL-5, IL-6, IL-8, IL-12, ο TNF- $\alpha$ , ο GM-CSF αλλά όχι και ο TNF- $\beta$  που σχετίζεται με την αναδιαμόρφωση (remodeling). Οι ανασταλτικές αυτές ενέργειες ασκούνται στο επίπεδο της μεταγραφής του DNA, της μετάφρασης του mRNA, της σταθερότητας και της απελευθέρωσης των πρωτεϊνών. Τα γονίδια που κωδικοποιούν τις κυτταροκίνες έχουν ένα στοιχείο στην 5' ρυθμιστική αλληλουχία που απαντά στα γλυκοκορτικοειδή. Το σημείο αυτό είναι στόχος του συμπλόκου που σχηματίζουν τα γλυκοκορτικοει-



**Εικόνα 8.10: Μηχανισμός δράσης των φαρμάκων που αυξάνουν τα επίπεδα του cAMP.** Η αδενυλοκυκλάση προάγει τη μετατροπή της ATP σε cAMP. Οι φωσφοδιεστεράσες διασπούν την cAMP και την αδρανοποιούν. Ουσίες οι οποίες αυξάνουν την cAMP, όπως οι αναστολείς της φωσφοδιεστεράσης πεντοξυφιλίνη, αμρινόνη, μιλρινόνη αλλά και ουσίες που διεγείρουν τη σύνθεση του παραπάνω κυκλικού νουκλεοτιδίου διεγείροντας την αδενυλοκυκλάση όπως η δοβουταμίνη και η αδενοσίνη εμποδίζουν τη μεταγραφή του TNF-α αναστέλλοντας τη σύνθεση του TNF-α mRNA.  
Δ. Γιαννακίδης, Internet - Medline (2005)

δή με τον ενδοπλασματικό υποδοχέα τους· το σύμπλοκο εγκαταλείπει το κυτταρόπλασμα και οδεύει προς τον πυρήνα.

3. Αναστολείς των μεταλλοπρωτεϊνών στρώματος εμποδίζουν τη μετατροπή της πρόδρομης μορφής του TNF-α των 26 kDa στην ώριμη μορφή των 17 kDa. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, ο TNF-α συντίθεται από ένα προπεπτιδίο της τάξης των 26 kDa με 76 πλεονάζοντα αμινοξέα εξαρτημένα από το αμινοτελικό πέρας, τα οποία αποκόπτονται με τη δράση μεταλλοπρωτεϊνών στρώματος οι οποίες ευρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη προς σχηματισμό του ώριμου πεπτιδίου των 17 kDa.
4. Η θαλιδομίδη επιτείνει τη διάσπαση του TNF-αm RNA και με το μηχανισμό αυτό αναστέλλει τη σύνθεση του TNF-α στα μακροφάγα, χωρίς να επηρεάζει τις άλλες κυτταροκίνες. Η αξιοποίηση των ιδιοτήτων αυτών της θαλιδομίδης αποτελεί πειραματική στόχευση.
5. Διαλυτοί αναστολείς ή ανταγωνιστές του TNF-α, όπως η ετανερσέπτη, ή εξουδετερωτικά αντισώματα, όπως η ινφλιξιμάβη, εμποδίζουν την κυτταροκίνη αυτή να συνδεθεί με τους υποδοχείς της TNFR1 (p55) και TNFR1 (p75). Η ετανερσέπτη είναι μια υβριδική πρωτεΐνη που περιέχει την περιοχή σύνδεσης δύο ανθρώπινων υποδοχέων TNF75 συνδεδεμένων με



το Fc τμήμα της ανθρώπινης IgG. Ο αναστολέας αυτός ενώνεται με τον TNF-α και τον εμποδίζει να συνδεθεί με τον υποδοχέα του. Χρησιμοποιείται υπό προϋποθέσεις σε αυτοάνοσες παθήσεις όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα και η νόσος του Crohn. Η ινφλιξικάβη είναι ένα χημειοκίνο μονοκλωνικό αντίσωμα το οποίο περιέχει ένα σταθερό ανθρώπινο τμήμα αποτελούμενο από το Fc τμήμα της ανοσοσφαιρίνης IgG1 και ένα μεταβλητό τμήμα Fab από ποντίκι. Συνδέεται με μεγάλη συγγένεια με τον TNF-α και τον εμποδίζει να συνδεθεί με τον υποδοχέα του.

Για τις ευεργετικές δράσεις που αφορούν την πρεδνιζόνη, την πεντοξυφιλίνη και τον ανταγωνιστή του TNF-α υπάρχουν και κλινικά δεδομένα (1). Οι αναφορές όμως για τους ανταγωνιστές του TNF-α δεν είναι ξεκάθαρες όσον αφορά την καρδιακή ανεπάρκεια. Ίσως να φταίει το γεγονός ότι το να σημαδεύουμε έναν στόχο δεν είναι αρκετό για να βελτιώσουμε μια τόσο πολύπλοκη πάθηση όπως η καρδιακή ανεπάρκεια. Ή, ακόμη, ότι λόγω ετερογένειας των ασθενών, οι αρνητικές παρατηρήσεις προέρχονται από ομάδες ασθενών που δεν ανταποκρίνονται στα φάρμακα αυτά (66).

Ασθενείς οι οποίοι έπασχαν από ρευματοειδή αρθρίτιδα και ελάμβαναν την ετανερσέπτη ή την ινφλιξιμάβη παρουσίασαν μικρότερη συχνότητα εμφάνισης καρδιακής ανεπάρκειας σε σχέση με αυτούς που δεν ελάμβαναν αντι TNF-α αγωγή (66). Σύμφωνα με άλλες αναφορές, η χορήγηση των παραπάνων φαρμάκων σε ασθενείς για άλλες φλεγμονώδεις νόσους ενέχει κινδύνους εμφάνισης καρδιακής ανεπάρκειας σε ασθενείς που δεν παρουσίαζαν ανάλογο πρόβλημα ή επιδείνωσης της ήδη υφισταμένης (67). Άλλες αναφορές ομιλούν για ασφαλή και επιτυχή χορήγηση της ετανερσέπτης σε ασθενείς με προχωρημένη καρδιακή ανεπάρκεια κατά το πρώτο τρίμηνο της θεραπείας (68). Τα μακροπρόθεσμα, όμως, αποτελέσματα δεν είναι ενθαρρυντικά σύμφωνα με ανασκόπηση που βασίζεται σε διπλή κλινική μελέτη (66).

Η ετανερσέπτη είναι, όπως αναφέρθηκε, ένας ανασυνδυσασμένος υποδοχέας του ανθρώπινου TNF-α ο οποίος συνδέεται με τον παράγοντα αυτό, καθώς αυτός κυκλοφορεί, και τον αδρανοποιεί πριν προλάβει να συνδεθεί με τους υποδοχείς του στην κυτταρική μεμβράνη. Σύμφωνα με υπάρχουσες αναφορές, η ουσία αυτή δεν είχε μακροπρόθεσμα θετικά αποτελέσματα σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια. Πιθανόν η δράση του παράγοντα αυτού να μην είναι τόσο αποφασιστικής σημασίας βλαπτική για την καρδιά, πιθανόν η δοσολογία να μην ήταν επαρκής, πιθανόν ο στόχος, που ήταν ο TNF-α, να μην έφθανε για να ανακοπεί ο καταρράκτης των φλεγμονωδών φαινομένων ή ακόμη η δέσμευση και η διατήρηση του βιολογικά ενεργού τριμερούς του παράγοντα αυτού να οδηγεί μακροπρόθεσμα σε απελευθέρωσή του και δράση. Μία άλλη εξήγηση είναι ότι η ελάττωση λόγω δέσμευσης

των επιπέδων αίματος του TNF-α ενδέχεται να αποστειρεί την καρδιά από τις προστατευτικές δράσεις του (66).

Η αντιμετώπιση του οξειδωτικού και κατ' επέκταση του νιτριτοξειδούς στρες θα χρειασθεί τη σύνθεση πλέον αποτελεσματικών από τα ήδη υπάρχοντα αντιοξειδωτικά φάρμακα. Καταλυτικά αντιοξειδωτικά φάρμακα με ρυθμούς υψηλής αντίδρασης, ουσίες που θα εξουδετερώνουν ένζυμα που στο μυοκάρδιο προκαλούν τη σύνθεση οξειδωτικών παραγόντων ή θα αναστέλλουν βιοχημικές οδούς που θα ενεργοποιούνται από τα δύο αυτά είδη στρες αποτελούν φαρμακολογικές προσεγγίσεις. Φάρμακα της ομάδας των τετρακυκλινών, όπως η δοξυκυκλίνη, που δρουν ως αναστολείς των μεταλλοπρωτεϊνών που ενεργοποιούνται από την υπεροξεινιτρική ρίζα έχουν δείξει σε κλινικές δοκιμασίες προστατευτικό ρόλο κατά το έμφραγμα του μυοκαρδίου και ελάττωση των φλεγμονωδών δεικτών κατά τη μετεμφραγματική περίοδο. Καταλύτες που προάγουν τη διάσπαση της ρίζας του υπεροξεινιτρώδους έχουν δείξει ενθαρρυντικά αποτελέσματα σε πειραματικά μοντέλα με επίμυες. Τέλος, δεν πρέπει να λησμονείται ότι οι ασθενείς που πάσχουν από καρδιακή ανεπάρκεια λαμβάνουν μία ποικιλία φαρμάκων μερικά εκ των οποίων, όπως η καρβεδιλόλη, έχουν και αντιοξειδωτικές δράσεις (52).

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ**

1. Mann D.: Cytokines as mediators of disease progression in the failing heart. In: Hosenpud J. and Greenberg B.(eds) " Congestive heart failure. Lippicott Williams and Wilkins, Philadelphia (2000)
2. Κόκκας Β.: Θέματα Μοριακής Φαρμακολογίας. University Studio Press, Θεσσαλονίκη (1999)
3. Dray A., Bevan S.:Inflammation and hyperalgesia. *Trends Pharmacol. Sci.* 14: 287-290 (1993)
4. Henderson B., Blake S.: Therapeutic potential of cytokine manipulation. *Trends Pharmacol. Sci.* 13: 145-152 (1992)
5. Haynes B., Fauci A.: Disorders of the immune system. In Braunwald E. et al (eds) Harisson's Principles of internal Medicine. McGraw –Hill, N.York, p.1805 (2001)
6. Yokoyama T., Nacano M., Bednarczyk J., et al.: Tumor necrosis factor-  $\alpha$  provokes a hypertrophic growth response in adult cardiac myocytes. *Circulation* 95: 1247-1252 (1997)
7. Yokoyama T., Vaca L., Rossen R. et al.: Cellular basis for the negative inotropic effects of tumor necrosis factor- $\alpha$  in the adult mammalian heart. *J.Clin. Invest.* 92:2303-2312 (1993)
8. Gulick T., Chung M., Pieper S. et al.: Interleukin -1 and tumor necrosis factor- inhibit cardiac myocyte  $\beta$ - adrenergic responsiveness. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:6753-6757 (1989)
9. Hooper N.: Membrane protein secretases. *Bioch. J.* 321:265-279 (1997)
10. Turner A., Hooper N.: The angiotensin converting enzyme gene family. Genomics and Pharmacology. *Trends Pharmacol. Sci* 23:177-183 (2002)
11. Torre-Amione G., Kapadia S., Lee J. et al.: Expression and functional significance of tumor necrosis factor receptors in human myocardium. *Circulation* 92: 1487-1493 (1995)
12. Nakano M., Knowlton A., Dibbs Z. et al.: Tumor necrosis factor  $\alpha$  confers resistance to injury induced by hypoxic injury in adult mammalian cardiac myocyte. *Circulation* 97:1392-1400 (1998)
13. Dinarello C.: Biological basis for interleukin-1 in disease. *Blood* 87: 2095-2147 (1996)
14. Hirano T., Yasukawa K., Harada H et al.: Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature* 324: 73-78 (1986)
15. Hirano T.: Interleukin -6 In: Thompson A. (ed) "The cytokine handbook" Academic Press, Boston, p 169 (1999)
16. Eder J.: Tumour necrosis factor  $\alpha$  and interleukin: do MAPKK kinases connect it all. *Trends Pharmacol. Sci.* 18: 319-322 (1997)

17. Kinloch R., Treherne J., Furness L., Hajimohamadreza I.: The pharmacology of apoptosis. *Trends Pharmacol. Sci.* 20: 35-42 (1999)
18. Κόκκας Β.: Θέματα Μοριακής Φαρμακολογίας. University Studio Press. Θεσσαλονίκη (2003)
19. Κόκκας Β, Κ.Α.Παπαδόπουλος και Α. Μισσοπούλου . Μηχανισμοί διακίνησης των ιόντων ασβεστίου σε κυτταρικό επίπεδο. *Αρτηριακή Υπέρταση* 5:61-68 (1996)
20. Sancho J., Alvarez J., Montero M., Vilalobos C.: Ca<sup>2+</sup> influx following receptor activation . *Trends Pharmacol. Sci.* 13: 12-13 (1992)
21. Sorrentino V., Rizzuto R.: Molecular genetics of Ca<sup>2+</sup> stores and intracellular Ca<sup>2+</sup> signalling. *Trends Pharmacol. Sci.* 22:461-466 (2001)
22. Birnbaumer L., Mattera R., Yatani A., VanDongen A., Graf R., Sanford J., Codina J., Brown A.: Roles of G- proteins in coupling of receptors to ionic channels . In: Nahorski St. ed . Transmembrane Signaling . Intracellular messengers and implications for drug development . New York . Wiley - Interscience Publ. pp.43- 71 (1990)
23. Schneider T., Igelmund P., Hescheler J.: G- protein interaction with K<sup>+</sup> and Ca<sup>2+</sup> channels . *Trends Pharmacol. Sci.* 18: 8-11 (1997)
24. Mikoshita K.: Inositol 1,4,5 triphosphate receptor . *Trends Pharmacol. Sci.* 13: 86-88 (1993)
25. Hasenfuss G., Seider T.: Treatment of heart failure through stabilization of the cardiac ryanodine receptor. *Circulation* 107:378-389 (2003)
26. Bozkurt B., Kribbs S., Clubb F. et al Pathophysiologically relevant concentrations of tumor necrosis factor- $\alpha$  promote progressive left ventricular dysfunction and remodeling in rats. *Circulation* 97:1382-1391 (1998)
27. Li S., Westwick J., Poll C.: Receptor-operated Ca<sup>2+</sup> influx channels in leukocytes: a therapeutic target? *Trends Pharmacol. Sci.* 23: 63-69 (2002)
28. Jiang M., Lokuta A., Farrell E.: Abnormal Ca<sup>2+</sup> release, but not normal ryanodine receptor, in canine and human heart failure. *Circ. Res.* 91:1015-24 (2002)
29. Genazzani A. and Galione A.: A Ca<sup>2+</sup> release mechanism gated by the novel pyridine nucleotide NAADP . *Trends Pharmacol. Sci.* 18: 108-110 (1997)
30. Taylor C.: Ca<sup>2+</sup> sparks a wave of excitement . *Trends Pharmacol. Sci* 15: 271-274 (1994)
31. Kerins D., Robertson R.M., Robertson D.: Drugs used for the treatment of myocardial ischemia. In: Hardman J. and Limbird I. (eds). Goodman and Gilman's. The Pharmacological Basis of Therapeutics. McGraw-Hill Med. Publ. Div. New York, pp 843-870 (2001)

32. Καστελλάνος Στ.: Καρδιακή ανεπάρκεια. Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιάνου. Αθήνα (2001)
33. Torre-Amione G.: Immune activation in chronic heart failure. *Am. J. Cardiol.* 95:3C-8C (2005)
34. Mery P., Lohmann S., Walter W. et al.:  $Ca^{2+}$  current is regulated by cyclic GMP-dependent protein kinase in mammalian cardiac myocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:1197-1201 (1991)
35. Balligand J., Ungureanu D., Kelly R. et al.: Abnormal contracting function due to induction of nitric oxide synthesis in rat cardiac myocyte follows exposure to activated macrophage conditioned medium. *J.Clin. Invest.* 91:2314-2319 (1993)
36. Lopez Farre A. and casado S.: Heart failure, redox alterations and endothelial dysfunction. *Hypertension* 38:1400-1405 (2001)
37. Lang C., Dobrescu C., Bagby G.: Tumor necrosis factor impairs insulin action on peripheral glucose disposal and hepatic glucose output. *Endocrinology* 130:43-52 (1992)
38. Mann D., Young B.: Basic mechanisms in congestive heart failure recognizing the role of proinflammatory cytokines. *Chest* 105:897-904 (1994)
39. Seta Y., Shan K., Bozkurt B. et al.: Basic mechanisms in heart failure. The cytokine hypothesis. *J. Card. Failure* 2:243-249 (1996)
40. Thaik C., Calderone A., Takahashi N. et al.: Interleukin-1 modulates the growth and phenotype of neonatal rat cardiac myocytes. *J.Clin. Invest.* 96:1093-1099 (1995)
41. Kubota T., McTierman C., Frye C. et al.: Dilated cardiomyopathy in transgenic mice with cardiac specific overexpression of tumor necrosis-alpha. *Circ.Res.* 81:627-635 (1997)
42. Ferrari R., Bachetti T., Confortini R. et al.: Tumor necrosis factor soluble receptors in patients with various degrees of congestive heart failure. *Circulation* 92:1479-1486 (1995)
43. Satoh M., Nakamura M., Tamura G. et al.: Inducible nitric oxide synthase and tumor necrosis factor-alpha in myocardium in human dilated cardiomyopathy. *J.Am. Col. Cardiol.* 29:716-724 (1997)
44. Anderson J., Cariquist J., Hammond E.: Deficient natural killer cell activity in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Lancet* 2:1124-1127 (1982)
45. Klein R., Maisc B., Kochsiek K. et al.: Demonstration of organ specific antibodies against heart mitochondria (anti-M7) in sera from patient with some forms of heart diseases. *Clin. Exp. Immunol.* 58:283-292 (1984)
46. Giroir B., Johnson J., Brown T. et al.: The tissue distribution of tumor

- necrosis factor biosynthesis during endotoxemia. *J. Clin. Invest.* 90:693-698 (1992)
47. Kapadia S., Oral H., Lee J. et al.: Hemodynamic regulation of tumor necrosis factor- $\alpha$  gene and protein expression in adult feline myocardium. *Circ. Res.* 81:187-195 (1997)
  48. Tsutamoto T., Hisanaga T., Wada A. et al.: Interleukin-6 spillover in the peripheral circulation increases with the severity of heart failure and the high plasma level of interleukin-6 is an important prognostic predictor in patient with congestive heart failure. *J. Am. Col. Cardiol.* 31:391-398 (1998)
  49. Anker S., Egerer K., Volk H. et al.: Elevated soluble CD14 receptor and altered cytokines in chronic heart failure. *Am. J. Cardiol.* 79:1426-1420 (1997)
  50. Gullestad L., Kjekshus J., Damas J.: Agents targeting inflammation in heart failure. *Expert. Opin. Invest. Drug.* 14:557-566 (2005)
  51. Finkel M., Oddis C., Jacob T.: Negative inotropic effects of cytokines on the heart mediated by nitric oxide. *Science* 257:387-389 (1992)
  52. Pacher P., Schulz R., Liaudet L., Szabo C.: Nitrosative stress and pharmacological modulation of heart failure. *Trends Pharmacol. Sci.* 26:302-310 (2005)
  53. Kolesnick R., Golde D.: The sphingomyelin pathway in tumor necrosis factor and interleukin-1 signaling. *Cell* 77:325-328 (1994)
  54. Weber K.: Cardiac interstitium in health and disease. The fibrillar collagen network. *J. Am. Col. Cardiol.* 13: 1637-1652 (1989)
  55. Kapadia S., Lee J., Torre-Amione G. et al.: Tumor necrosis factor gene and protein expression in adult feline myocardium. *J. Clin. Invest.* 96:1042-1052 (1995)
  56. Zabel P., Schade F., Schlack M.: Inhibition of endogenous TNF formation by pentoxifylline. *Immunobiology* 187:447-463 (1993)
  57. Giroir B., Beutler B.: Effect of amrinone on tumor necrosis factor production in endotoxin shock. *Circ. Shock* 36:200-207 (1992)
  58. Remick D., Strieter S., Lynch J. et al.: In vivo dynamics of murine tumor necrosis factor- $\alpha$  gene expression. Kinetics of dexamethazone-induced suppression. *Lab. Invest.* 60:766-771 (1989)
  59. Mohler K., Sleath P., Fitzner J. et al.: Protection against a lethal dose of endotoxin by an inhibitor of tumor necrosis factor processing. *Nature* 370:218-220 (1994)
  60. Moreira A., Sampaio E., Zmuidzinas A. et al.: Thalidomide exerts its inhibitory action on tumor necrosis factor- $\alpha$  by enhancing messenger RNA degradation. *J. Exp. Med.* 177:1675-1680 (1993)

61. Parrillo J., Cunnion R., Epstein S. et al.: A prospective randomized controlled trial of prednisone for dilated cardiomyopathy. *N. Engl. J. Med.* 321:1061-1068 (1989)
62. Sliwa K., Skudicky D., Candy G. et al.: Randomized investigation of effects of pentoxifylline on left ventricular performance in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Lancet* 351:1091-1093 (1998)
63. Mohler E., Sorensen L., Ghali G. et al.: Role of cytokines in the mechanism of action of amlodipine. The PRAISE heart failure trial. *J.Am.Col. Cardiol.* 30:35-41 (1997)
64. Page C., Curtis M., Sutter M., Walker M., Hoffman B.: Φαρμακολογία. Ιατρικές Εκδόσεις Π.Πασχαλίδης. Αθήνα (2000)
65. Mann D.: Activation of inflammatory mediators in heart failure. In: Mann D. (ed) "Heart Failure". Saunders, Philadelphia pp 159-180 (2004)
66. Mann D., McMurray J., Packer M., et al.: Targeted anticytokine therapy in patients with chronic heart failure. *Circulation* 109:1594-1602 (2004)
67. Wolfe F., Michaud K.: Heart failure in reumatoid arthritis: Rates, predictors, and the effect of anti-Tumor Necrosis Factor therapy. *Am. J. Medicine* 116:305-311 (2004)
68. Kwon H., Cote T., Cuffe M., Kramer J.: Case reports of heart failure after therapy with Tumor Necrosis Factor antagonist. *An. Internal Medicine* 138: 807-812 (2003)
69. Bozkurt B., Torre-Amione G., Warren M. et al.: Results of targeted anti-Tumor Necrosis Factor therapy with etanercept (ENBREL) in patients with advanced heart failure. *Circulation* 103:1044-1047 (2001)

