

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθυντής: Επίκουρος Καθηγητής Σπύρος Ποταμιάνος

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑΣ – ΙΣΤΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ

Διευθυντής: Καθηγητής Αναστάσιος Γερμενής

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

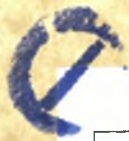
Αναστασίας Ι. Καψωριτάκη

Ιατρού Βιοπαθολόγου

ΤΙΤΛΟΣ

**Μελέτη αγγειογενετικών παραγόντων στις ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις
εντεροπάθειες**

ΛΑΡΙΣΑ 2008



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»**

Αριθ. Εισ.: 7333/1

Ημερ. Εισ.: 31-07-2009

Δωρεά: _____

Ταξιθετικός Κωδικός: Δ

616.34

ΚΑΨ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



00400008364 1



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθυντής: Επίκουρος Καθηγητής Σπύρος Ποταμιάνος

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑΣ – ΙΣΤΟΣΥΜΒΑΤΟΤΗΤΑΣ

Διευθυντής: Καθηγητής Αναστάσιος Γερμενής

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Αναστασίας Ι. Καψωριτάκη

Ιατρού Βιοπαθολόγου

ΤΙΤΛΟΣ

**Μελέτη αγγειογενετικών παραγόντων στις ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις
εντεροπάθειες**

ΛΑΡΙΣΑ 2008

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Εισαγωγή

2. Η αγγειογένεση στις φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις

2.1. Η αγγειογένεση στις φυσιολογικές καταστάσεις

2.2. Η αγγειογένεση στους όγκους

2.3. Υποξία και αγγειογένεση

2.4. Η αγγειογένεση στη φλεγμονή

3. Αγγειογενετικοί παράγοντες

3.1. Αυξητικός παράγοντας του ενδοθηλίου των αγγείων

3.2. Βασικός αυξητικός παράγοντας των ινοβλαστών

3.3. Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας

3.4. Αυξητικός παράγοντας μετασχηματισμού α

3.5. Αυξητικός παράγοντας μετασχηματισμού β

3.6. Αυξητικός παράγοντας προερχόμενος από τα αιμοπετάλια

3.7. Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας προερχόμενος από τα αιμοπετάλια

3.8. Μεταλλοπρωτεϊνάσες της μεσοκυττάριας ουσίας

3.9. Αυξητικός παράγοντας των ηπατοκυττάρων

3.10. Ιντερλευκίνες

3.11. Παράγοντας Νέκρωσης των Όγκων

3.12. Αγγειογενίνη

3.13. Ερυθροποιητίνη

- 3.14. Παράγοντας επαγόμενος από την υποξία
 - 3.15. Αγγειοποιητίνες
 - 3.16. Ινσουλινοειδής αυξητικός παράγοντας και αυξητική ορμόνη
 - 3.17. Κυκλοοξυγενάσες
 - 3.18. Λεπτίνη
 - 3.19. Θρομβοσπονδίνες
 - 3.20. Ενδοστατίνη
 - 3.21. Αγγειοστατίνη
 - 3.22. Βαζοστατίνη
 - 3.23. Προλακτίνη και Πλακουντιακό Γαλακτογόνο
 - 3.24. Ειδικό Προστατικό Αντιγόνο
 - 3.25. Τροπονίνη – I
 - 3.26. 2 – Μεθοξυοιστραδιόλη
 - 3.27. 4^{ος} Αιμοπεταλιακός Παράγοντας
- 4. Θεραπευτικές εφαρμογές της αγγειογένεσης
 - 5. Φάρμακα που τροποποιούν την αγγειογένεση
 - 5.1. Αναστολείς πρωτεασών
 - 5.2. Αναστολείς προαγγειογενετικών παραγόντων και ανταγωνιστές υποδοχέων
 - 5.3. Ενδοθηλιακές τοξίνες και φυσικοί αναστολείς
 - 5.4. Διάφορα

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. TIMPs

1.2. PDGFs

2. ΣΚΟΠΟΣ

3. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

3.1. Ασθενείς

3.2. Μέθοδοι

3.3. Στατιστική ανάλυση

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1. Επίπεδα ορού των TIMPs

4.2. Επίπεδα ορού των PDGFs

4.3. Επίπεδα SAA και CRP

4.4. Μελέτες συσχέτισης

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

ΠΙΝΑΚΕΣ

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ (CURRICULUM VITAE)

Ονομάζομαι Αναστασία Καψωριτάκη και γεννήθηκα στις 16 Σεπτεμβρίου 1973 στο Ηράκλειο Κρήτης. Αποφοίτησα το 4^ο Λύκειο Ηρακλείου Κρήτης το 1991. Εισήχθην με Πανελλαδικές Εξετάσεις στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Κρήτης το 1992 και απέκτησα το πτυχίο της Ιατρικής Σχολής στις 15/12/1998 με βαθμό <<Λίαν καλώς>> (8.04, οκτώ και τέσσερα εκατοστά). Ολοκλήρωσα την υποχρεωτική τρίμηνη εκπαίδευση για την εκπλήρωση της υπηρεσίας υπαίθρου στις 4/5/1999 και την υπηρεσία υπαίθρου στις 25/5/2000. Ασκήθηκα ως ειδικευόμενη ιατρός στην ειδικότητα της Ιατρικής Βιοπαθολογίας από 25/10/2000 έως 25/7/2005 στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ηρακλείου Κρήτης και απέκτησα την άδεια άσκησης ειδικότητας Ιατρικής Βιοπαθολογίας στις 14/3/2006. Προσλήφθηκα ως επικουρική ιατρός στο Ανοσολογικό Εργαστήριο του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας από 10/1/2007 έως 10/1/2008 και από 20/3/2008 έως σήμερα. Έχω συμμετάσχει σε μία δημοσιευμένη εργασία σε ελληνικό περιοδικό ως πρώτος συγγραφέας και μία δημοσιευμένη εργασία σε ξένο περιοδικό ως δεύτερος συγγραφέας. Έχω συμμετάσχει με 6 ανακοινώσεις σε ελληνικά συνέδρια με δημοσιεύσεις των περιλήψεων σε ελληνικά περιοδικά και με μία ανακοίνωση σε διεθνές συνέδριο η περίληψη της οποίας έχει δημοσιευθεί σε διεθνές περιοδικό. Μία από τις παραπάνω ανακοινώσεις έχει βραβευτεί στο αντίστοιχο συνέδριο. Έχω παρακολουθήσει 16 ημερίδες και μετεκπαιδευτικά σεμινάρια και έχω παρευρεθεί σε 26 ιατρικά συνέδρια. Μιλώ Αγγλικά (Cambridge First Certificate) και Γαλλικά (Diplome d' Etudes Superieures III).

ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

1. **A. I. Καψωριτάκη**, A. N. Καψωριτάκης. Η αγγειογένεση στις ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις εντεροπάθειες. **Ιατρική 2006**, 90(4): 279-293.
2. Andreas N. Kapsoritakis, **Anastasia I. Kapsoritaki**, Ioanna P. Davidi, Vasilios D. Lotis, Anastasios C. Manolakis, Petros I. Mylonis, Aikaterini T. Theodoridou, Anastasios E. Germenis, Spyros P. Potamianos. Imbalance of tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP) - 1 and - 4 serum levels, in patients with inflammatory bowel disease. **BMC Gastroenterology** (under revision)

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ ΑΠΟ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

1. **A. I. Καψωριτάκη**, A. N. Καψωριτάκης, I. Δαβίδη, Β. Λώτης, Α. Τσικούρας, Φ. Τσιόπουλος, Α. Ψύχος, Α. Γερμενής, Σ. Ποταμιάνος. Οι ιστικοί αναστολείς των μεταλλοπρωτεϊνών (TIMPs) στις ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις εντεροπάθειες (ΙΦΕΝ). 27^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας, 4-7 Οκτωβρίου 2007. *Annals of Gastroenterology*, October 2007, Volume 20, Supplement. **3^ο ΒΡΑΒΕΙΟ ΠΡΟΦΟΡΙΚΗΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΗΣ.**
2. **A. I. Καψωριτάκη**, A. N. Καψωριτάκης, I. Δαβίδη, Α. Τσικούρας, Β. Λώτης, Φ. Τσιόπουλος, Κ.Οικονόμου, Α. Γερμενής, Σ. Ποταμιάνος. Τα επίπεδα ορού του PDGF-BB ως δείκτης δραστηριότητας της νόσου σε ασθενείς με ΙΦΕΝ. 7^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιδιοπαθών Φλεγμονωδών Νοσημάτων του Εντέρου, 20-22 Ιουνίου 2008.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Για την ολοκλήρωση της παρούσας διδακτορικής διατριβής βοήθησαν στελέχη της Γαστρεντερολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας σε συνεργασία με το εργαστήριο Ανοσολογίας - Ιστοσυμβατότητας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον Διευθυντή της Πανεπιστημιακής Γαστρεντερολογικής Κλινικής Αναπληρωτή Καθηγητή Κο Σπύρο Ποταμιάνο που υπήρξε ο κύριος εμπνευστής και καθοδηγητής της ομάδας μελέτης των ιδιοπαθών φλεγμονωδών νόσων και επιβλέπων στην παρούσα μελέτη.

Τον Καθηγητή Παθολογίας Κο Νικόλαο Σταθάκη για την συμμετοχή του στην τριμελή επιτροπή.

Τον Καθηγητή Παθολογοανατομίας Κο Γεώργιο Κουκούλη για την συμμετοχή του στην τριμελή επιτροπή.

Επίσης ευχαριστώ θερμά τον Επίκουρο Καθηγητή Γαστρεντερολογίας Κο Ανδρέα Καψωριτάκη συντονιστή και σύμβουλο της παρούσας διατριβής για την πολύτιμη βοήθεια που μου παρείχε σε όλη τη διάρκεια της μελέτης.

Επίσης τον Καθηγητή Ανοσολογίας Κο Αναστάσιο Γερμενή για τη συμβολή του στην πραγματοποίηση αυτής της μελέτης, καθώς και για τις πολύτιμες συμβουλές που μου παρείχε καθ'όλη τη διάρκεια της παραμονής μου στο Εργαστήριό του.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τους συναδέλφους Ι. Δαβίδη, Β. Λώτη, Α. Θεοδωρίδου, Ε. Μπαρμπούτση και Δ. Νικούλη για την πολύτιμη βοήθεια και συμπαράστασή τους κατά τη διάρκεια διεξαγωγής της μελέτης.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Οι φλεγμονώδεις εντεροπάθειες ήταν γνωστές από την εποχή του Ιπποκράτη. Αλλά τα τελευταία εκατό χρόνια ξεχώρισαν δύο φαινομενικά διαφορετικές κλινικοπαθολογικές οντότητες άγνωστης αιτιολογίας, η Ελκώδης Κολίτιδα και η Νόσος Crohn που ονομάζονται μαζί ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις εντεροπάθειες (ΙΦΕΝ) και οι οποίες αποκτούν συνεχώς και μεγαλύτερη κλινική σημασία.

Οι ΙΦΕΝ προσβάλλουν άτομα όλων των ηλικιών και οποιασδήποτε εθνικής καταγωγής, προκαλούν εντερικές και συστηματικές εκδηλώσεις που πολλές φορές γεννούν προβλήματα στην αντιμετώπιση τους από τους κλινικούς ιατρούς. Ένα από τα κυριότερα προβλήματα που αντιμετωπίζει ο γιατρός στην καθημερινή κλινική πράξη αφορά την εκτίμηση της ενεργότητας των νοσημάτων αυτών.

Για την εκτίμηση της δραστηριότητας της νόσου στις ΙΦΕΝ έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες κλινικοί παράμετροι και βιολογικοί δείκτες. Σήμερα χρησιμοποιούνται κυρίως για την νόσο Crohn: ο Crohn's Disease Activity Index (CDAI), ενώ για την ελκώδη κολίτιδα: ο Clinical Colitis Activity Index (CCAI), ο δείκτης Truelove-Witts και ο δείκτης Harvey-Bradshaw αλλά με πολλά προβλήματα στην καθημερινή χρήση. Οι δείκτες αυτοί δίνουν έμμεση μόνο εκτίμηση της δραστηριότητας της νόσου και κανείς δεν είναι ακριβής, όσο ακριβή μπορεί να είναι τα ευρήματα της ιστολογικής ή της ενδοσκοπικής εξέτασης.

Επίσης διάφοροι βιολογικοί δείκτες φλεγμονής έχουν χρησιμοποιηθεί για τη διάγνωση, την εκτίμηση της πρόγνωσης και της αποτελεσματικότητας της θεραπείας. Στους κλασσικούς βιολογικούς δείκτες συμπεριλαμβάνονται η ταχύτητα καθίζησης των ερυθρών αιμοσφαιρίων (ΤΚΕ), οι πρωτεΐνες οξείας φάσης με κύριο εκπρόσωπο την C αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP), ο αριθμός λευκών αιμοσφαιρίων, ο αριθμός των αιμοπεταλίων, η λευκωματίνη, η β2-μικροσφαιρίνη κ.α'.

Στην διατριβή αυτή μελετήθηκε ιδιαίτερα ο ρόλος των ιστικών αναστολέων των μεταλλοπρωτεϊνών (TIMPs) και των προερχόμενων από τα αιμοπετάλια αυξητικών

παραγόντων (PDGFs) στις ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις εντεροπάθειες, οι οποίοι επεμβαίνουν στη διαδικασία της αγγειογένεσης και της φλεγμονής και συμβάλλουν στην αποκατάσταση της βλάβης των ιστών.

Οι TIMPs και οι PDGFs αναστέλλουν και ενισχύουν αντίστοιχα την αγγειογένεση. Η αγγειογένεση και η φλεγμονή αποτελούν διαδικασίες αλληλοεξαρτώμενες, ενώ συγχρόνως η αγγειογένεση συνδυάζεται και με την ιστική επούλωση. Η φλεγμονή, η ιστική καταστροφή και η επούλωση χαρακτηρίζουν ιδιαίτερα τις ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις εντεροπάθειες. Με βάση τα δεδομένα αυτά έγινε προσπάθεια εκτίμησης του ρόλου των TIMPs και PDGFs στον παθογενετικό μηχανισμό των ΙΦΕΝ, επιχειρήθηκε συσχέτιση των επιπέδων των παραγόντων αυτών στον ορό του αίματος με τη νόσο και εξετάστηκε το ενδεχόμενο να χρησιμοποιηθούν οι παράγοντες αυτοί ως δείκτες για την εκτίμηση της ενεργότητας της νόσου στους ασθενείς με ΙΦΕΝ.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Εισαγωγή

Αγγειογένεση ονομάζεται η διαδικασία σχηματισμού νέων αιμοφόρων αγγείων και η ανάπτυξη αγγειακού δικτύου σε φυσιολογικές καταστάσεις ή κατά τη διαδρομή διαφόρων νοσημάτων. Ο όρος αγγειογένεση χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά το 1935 από τον Hertig, για να περιγράψει το σχηματισμό νέων αγγείων σε πλακούντα πιθήκου (1). Αργότερα παρατηρήθηκε ότι η αγγειογένεση κατέχει κεντρική θέση στην παθογένεια πολλών νοσημάτων όπως η διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια, η ψωρίαση, η ρευματοειδής αρθρίτιδα και η υπερανάπτυξη των *vasa vasorum* στην αρτηριοσκλήρυνση (2).

Οι γνώσεις μας γύρω από την αγγειογένεση προήλθαν κυρίως από την εκτεταμένη έρευνα στους συμπαγείς όγκους. Οι πρώτες μικροσκοπικές παρατηρήσεις της αγγείωσης των όγκων έγιναν από τους Ide et al. το 1939 μετά από εμφύτευση καρκινικών κυττάρων σε αυτί κουνελιών (3). Ακολούθησαν οι Algire et al. το 1945 που μελέτησαν την ικανότητα των όγκων να αναπτύσσουν νέο τριχοειδικό ενδοθήλιο, συνεχόμενο του ενδοθηλίου των αγγείων των γειτονικών υγιών ιστών, μετά από μεταμόσχευση καρκινικών κυττάρων σε ποντίκια και εισήγαγαν τον όρο αγγειογένεση των όγκων ή νεοαγγειογένεση (4). Ακολούθησαν πολλές μελέτες *in vitro* στις οποίες διαπιστώθηκε ότι τα καρκινικά κύτταρα πολλαπλασιάζονται και παίρνουν τη μορφή μικρών όγκων διαμέτρου 1-2 mm, αλλά εάν αποτύχει η δημιουργία αγγείων η ανάπτυξη τους τερματίζεται, ενώ με την εμφάνιση αγγειογενετικής δραστηριότητας αυξάνουν σε μέγεθος.

2. Η αγγειογένεση στις φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις

Η διαδικασία της αγγειογένεσης είναι φυσιολογικό φαινόμενο στον ανθρώπινο οργανισμό, κυρίως στα παιδιά αλλά και στους ενήλικες. Στο αναπτυσσόμενο έμβρυο κατά τη διάρκεια της ενδομήτριας ζωής αναπτύσσεται το εκτενές δίκτυο αρτηριών, φλεβών και τριχοειδών που ανευρίσκεται στο ώριμο ανθρώπινο σώμα. Η διεργασία αυτή παράγει αρχικά ένα δίκτυο αγγειακών ενδοθηλιακών κυττάρων που θα δημιουργήσουν στη συνέχεια μεγάλα αιμοφόρα αγγεία. Αργότερα, η διαδικασία της αγγειογένεσης συνεχίζεται με την αναδόμηση του δικτύου αυτού προς νέα μικρότερα αιμοφόρα αγγεία και τριχοειδή που συμπληρώνουν το κυκλοφορικό σύστημα του παιδιού.

Η δημιουργία νέων αιμοφόρων αγγείων, μολονότι είναι σχετικά ασύνηθες, λαμβάνει χώρα και στους ενήλικες. Τα τοιχώματα των αιμοφόρων αγγείων των ενηλίκων σχηματίζονται από αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα που σπάνια διαιρούνται. Η κυτταρική διαίρεση αυτών των κυττάρων συμβαίνει κατά μέσο όρο κάθε τρία έτη, ωστόσο κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες η αγγειογένεση μέσω μηχανισμών που αναφέρονται παρακάτω μπορεί να προκαλέσει τη διαίρεσή τους. Στις γυναίκες η αγγειογένεση είναι ενεργός λίγες ημέρες μηνιαίως καθώς νέα αγγεία σχηματίζονται στη μήτρα κατά τη διάρκεια του καταμήνιου κύκλου. Επίσης η αγγειογένεση είναι απαραίτητη για την ανάπλαση και την αναγέννηση των ιστών και κατά την επούλωση των τραυμάτων.

Εκτός όμως από τις φυσιολογικές περιπτώσεις η αγγειογένεση ενεργοποιείται και στη διάρκεια διαφόρων παθολογικών καταστάσεων όπως η ανάπτυξη και η διασπορά των καρκινικών κυττάρων. Τα καρκινικά κύτταρα απελευθερώνουν μόρια που αποστέλλουν «σήματα-ερεθίσματα» στον γύρω φυσιολογικό ιστό του ξενιστή για ενεργοποίηση συγκεκριμένων γονιδίων παραγωγής πρωτεϊνών, που προάγουν την ανάπτυξη νέων αιμοφόρων αγγείων εντός των καρκινικών δομών. Τα αγγεία αυτά παρέχουν θρεπτικές ουσίες και οξυγόνο στα νεοπλασματικά κύτταρα και απομακρύνουν τα προϊόντα του μεταβολισμού.

Η αγγειογένεση επίσης συμβάλλει στην παθογένεια πολλών χρόνιων, κυρίως φλεγμονωδών νοσημάτων όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η οστεοαρθρίτιδα, το άσθμα, η πνευμονική ίνωση, η ψωρίαση, η διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια, η νόσος Crohn (NC), η ελκώδης κολίτιδα (ΕΚ) και πολλές άλλες παθήσεις των αρθρώσεων, των πνευμόνων ή του εντέρου. Ο φλεγμονώδης ιστός είναι υποξικός, η υποξία έχει σαν αποτέλεσμα την παραγωγή και απελευθέρωση ουσιών που προάγουν τη διαίρεση και τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων στα ήδη υπάρχοντα αγγεία με τελικό αποτέλεσμα το σχηματισμό νέων αγγείων. (5,6)

2.1. Η αγγειογένεση στις φυσιολογικές καταστάσεις

Ο σχηματισμός των φυσιολογικών αιμοφόρων αγγείων περιλαμβάνει δύο συγγενείς αλλά ξεχωριστές διαδικασίες. Η πρώτη λαμβάνει χώρα κατά τη διάρκεια της εμβρυογένεσης και αφορά τη διαφοροποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων από πρόδρομα κύτταρα τους αγγειοβλάστες και τον επακόλουθο σχηματισμό του αγγειακού δικτύου του εμβρύου ενώ η δεύτερη περιλαμβάνει το σχηματισμό νέων τριχοειδών από τα προϋπάρχοντα αγγεία τόσο στο έμβρυο όσο και στους ενήλικες.

Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες στην αγγειογένεση παρατηρούνται διαδοχικά: ενεργοποίηση του αγγειογενετικού μηχανισμού, εκφύλιση της βασικής μεμβράνης, μετανάστευση κυττάρων, εισβολή της εξωκυττάριας ουσίας, πολλαπλασιασμός των ενδοθηλιακών κυττάρων και τελικά ο σχηματισμός του τριχοειδικού αυλού. Η νεοσχηματιζόμενη μικροκυκλοφορία ωριμάζει με την ενεργοποίηση του μηχανισμού της «λύσης» που περιλαμβάνει αναστολή του πολλαπλασιασμού, αναδόμηση της βασικής μεμβράνης και τον σχηματισμό συνάψεων μεταξύ των κυττάρων. Επιπλέον τα νεοσχηματισμένα αγγεία ωθούν τα κύτταρα που βρίσκονται γύρω από το ενδοθήλιο να παρέχουν στήριξη. Τα κύτταρα αυτά ονομάζονται περικύτταρα στα μικρά τριχοειδή και

λεία μυϊκά κύτταρα στα μεγαλύτερα αγγεία. Τα περιενδοθηλιακά υποστηρικτικά κύτταρα είναι γνωστό ότι δρουν ως παράγοντας επιβίωσης για τα ενδοθηλιακά κύτταρα. (7,8)

Η φυσιολογική αγγειογένεση είναι αυστηρά ρυθμιζόμενη διαδικασία και ελέγχεται από πλήθος παραγόντων με αυτοκρινή και παρακρινή δράση. Απαιτεί τη συνεργασία των γονιδίων που είναι υπεύθυνα για τον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και τη διαφοροποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων. Από την ενεργοποίηση των γονιδίων ως τη δράση στους ειδικούς υποδοχείς που βρίσκονται στα κύτταρα στόχους του ενδοθηλίου απαιτείται η μεσολάβηση δευτερευόντων ρυθμιστών. Ο εξωκυττάριος χώρος διαδραματίζει επίσης σημαντικό ρόλο σαν δεξαμενή των διαλυτών παραγόντων της αγγειογένεσης. Επιπλέον η ηπαρίνη, η πλασμίνη και οι φωσφολιπάσες τροποποιούν τη δράση των παραγόντων που παρεμβαίνουν στην ανάπτυξη των ενδοθηλιακών κυττάρων. Παρόλο όμως ότι πολλοί ρυθμιστές της αγγειογένεσης έχουν ταυτοποιηθεί έως σήμερα, μελέτες σε πειραματόζωα ανέδειξαν ότι ελάχιστα συμπλέγματα υποδοχέων τυροσινικής κινάσης καθορίζουν τη φυσιολογική αγγειακή ανάπτυξη. (9)

Η ποσοτική εκτίμηση της αγγειογένεσης σε ιστολογικά παρασκευάσματα επιτρέπει την εξαγωγή συμπερασμάτων που αφορούν το τελικό προϊόν μιας πολυσύνθετης διαδικασίας. Η μικροσκοπική εξέταση των αγγείων με σκοπό την καταμέτρηση τους επιτυγχάνεται με ανοσοϊστοχημική χρώση του ενδοθηλίου. Έχουν αναπτυχθεί πλήθος από μεθόδους με τις οποίες μπορούν να μελετηθούν ανοσοϊστοχημικά τα αγγεία. Οι κυριώτερες περιλαμβάνουν αντισώματα έναντι του παράγοντα von Willebrand, των ομάδων αίματος ABO και των μορίων των ενδοθηλιακών κυττάρων CD31, CD34, CD36, κ.ά. (10)

2.2. Η αγγειογένεση στους όγκους

Οι γνώσεις μας γύρω από την αγγειογένεση έχουν προέλθει κυρίως από μελέτες σε όγκους. Η διαδικασία ανάπτυξης αγγειακού δικτύου στους όγκους ονομάζεται νεοαγγειογένεση. Η αγγείωση των όγκων όμως παρουσιάζει ανατομικές, φυσιολογικές και ανοσολογικές ιδιότητες διαφορετικές από αυτές των υγιών ιστών. Σε αντίθεση με τη φυσιολογική αγγειογένεση, τα αγγεία των όγκων συχνά παρουσιάζουν ανωμαλίες όπως η πλήρης έλλειψη σύνδεσης μεταξύ ενδοθηλιακών κυττάρων και βασικής μεμβράνης, η ελικοειδής πορεία και οι αρτηριοφλεβικές αναστομώσεις. Επίσης η ροή του αίματος μέσα στον όγκο είναι βραδεία, με διαφυγή αίματος σε πολλά σημεία ενώ πολλά αγγεία δεν διαθέτουν περιενδοθηλιακό υποστηρικτικό υπόστρωμα.

Η έναρξη της αγγειογενετικής δραστηριότητας σε έναν όγκο εξαρτάται από μια κρίσιμη ισορροπία ανάμεσα στους ενεργοποιητές και τους αναστολείς της αγγειογένεσης, ο καθένας των οποίων παρουσιάζεται σε συγκεκριμένα στάδια της ογκογένεσης. Στην αρχή οι όγκοι έχουν πτωχή αγγείωση, ενώ μετά από κάποιο λανθάνοντα χρόνο αρχίζει η έντονη ανάπτυξη των αγγείων και ο όγκος γίνεται πιο επιθετικός. (11)

Έχουν προταθεί δύο μηχανισμοί για την εξήγηση της αγγειογένεσης των όγκων. Ο πρώτος διατυπώθηκε από τον Folkman το 1984 και προτείνει ότι αρχικά στους συμπαγείς όγκους εκκρίνονται πρωτεολυτικά ένζυμα από τα μετατριχοειδικά φλεβίδια του υγιούς ιστού που βρίσκεται σε συνέχεια με τον όγκο. Στη συνέχεια γίνεται αποδόμηση της μεσοκυττάριας ουσίας, ακολουθεί πολλαπλασιασμός και μετανάστευση ενδοθηλιακών κυττάρων προς τον όγκο που σχηματίζουν τρεις διαφορετικές ζώνες τη ζώνη μετανάστευσης, τη ζώνη πολλαπλασιασμού και τη ζώνη ωρίμανσης. Στην τελευταία τα ενδοθηλιακά κύτταρα οργανώνονται σε σωληνώδεις αγγειακούς σχηματισμούς που αναστομώνονται μεταξύ τους και με τα αγγεία του ιστού-ξενιστή και σχηματίζεται η αρχέγονη κυκλοφορία του όγκου. (12)

Σύμφωνα με τη δεύτερη άποψη που διατυπώθηκε από τους Hori et al. το 1990, μέσα στον όγκο αναπτύσσονται τριχοειδή αγγεία που προέρχονται κυρίως από τα

προτριχοειδικά αρτηρίδια του ξενιστή. Η αγγείωση του όγκου επεκτείνεται αποδιοργανώνοντας τα αγγεία του ξενιστή με σχηματισμό πολλών διακλαδώσεων και αναστομώνσεων μεταξύ των αγγείων του όγκου με εκείνα του ξενιστή. (13)

Τα δύο αυτά μοντέλα διαφέρουν μεταξύ τους, το πρώτο είναι κυρίως μηχανιστικό και εστιάζεται περισσότερο στις ικανότητες του ενδοθηλιακού κυττάρου για μετανάστευση, πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση, ενώ το δεύτερο δίνει περισσότερο έμφαση σε μια δυναμική διαδικασία που εμπλέκει το αγγειακό δίκτυο στο σύνολό του.

2.3. Υποξία και αγγειογένεση

Καθώς ο συμπαγής όγκος μεγαλώνει μερικά κύτταρα αναπόφευκτα απομακρύνονται από το θρεπτικό αγγειακό στρώμα και η παροχή συστατικών και οξυγόνου σε αυτά τα κύτταρα περιορίζεται. Το τελικό αποτέλεσμα είναι μεταβολικό στρες και κυτταρική υποξία που αποτελεί ερέθισμα - σήμα για τη δημιουργία πρόσθετων αιμοφόρων αγγείων. Η υποξία έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή του κυτταρικού μεταβολισμού και την ανάπτυξη ανώριμων, αρχιτεκτονικά αποδιοργανωμένων με μεγάλη διαπερατότητα αιμοφόρων αγγείων που διευκολύνουν το πέρασμα των καρκινικών κυττάρων στην κυκλοφορία. Έτσι η υποξία συμβάλλει στην ανάπτυξη και επιβίωση του όγκου και συντηρεί την εισβολή και μετάστασή του.

Οι λόγοι για τους οποίους οι όγκοι γίνονται υποξικοί παραμένουν αδιευκρίνιστοι αλλά πιθανώς σε αυτό συμβάλλουν πολλοί μηχανισμοί. Σε αυτούς περιλαμβάνονται η ταχεία ανάπτυξη, η αυξημένη κατανάλωση οξυγόνου από τα καρκινικά κύτταρα, η φτωχή λεμφαδενική παροχέτευση των όγκων που οδηγεί σε αύξηση της πίεσης του ενδιάμεσου χώρου, το όξινο pH και η ενδοογκική διαφυγή του πλούσιου σε οξυγόνο αίματος μέσα από την ανώριμη αγγείωση. Επιπλέον τα αγγεία του όγκου δεν πετυχαίνουν πάντα τον εφοδιασμό του όγκου με αίμα καθώς η ασυνεχής βασική

μεμβράνη των ανώριμων νεοαγγείων επιτρέπει την εξαγγείωση πλάσματος και πρωτεϊνών, προκαλώντας αύξηση της ενδοογκικής πίεσης με τελικό αποτέλεσμα τη φτωχή παροχή οξυγόνου.

Για να αυξήσουν λοιπόν τη διάθεση οξυγόνου ή να μειώσουν την κατανάλωση του τα κύτταρα του όγκου τροποποιούν τη μεταγραφή ευρείας κλίμακας γονιδίων τα πρωτεϊνικά παράγωγα των οποίων χρησιμεύουν είτε ως προαγγειογενετικοί παράγοντες είτε ως γλυκολυτικά ένζυμα που μειώνουν τον κυτταρικό μεταβολισμό της γλυκόζης. Ένας μεγάλος αριθμός τέτοιων γονιδίων είναι σήμερα γνωστός ότι ρυθμίζονται από την υποξία όπως αυτά που κωδικοποιούν την ερυθροποιητίνη, τον VEGF, κ.ά. (14)

2.4. Η αγγειογένεση στη φλεγμονή

Η αγγειογένεση θεωρείται ότι συμβάλλει στην παθογένεια πολλών χρόνιων φλεγμονωδών νοσημάτων των αρθρώσεων, των πνευμόνων, του εντέρου κ.ά. Η φλεγμονή ως απάντηση των ιστών σε κάποιο βλαπτικό παράγοντα προάγει την αγγειογένεση με ποικίλους τρόπους. Ο φλεγμονώδης ιστός είναι συχνά υποξικός και η υποξία όπως αναφέρεται και παραπάνω μέσα από την παραγωγή παραγόντων που προάγουν την αγγειογένεση προκαλεί τη δημιουργία νέων αγγείων. Επίσης οι πρωτεΐνες του πλάσματος που εξαγγειώνονται, όπως τα προϊόντα αποδόμησης του ινωδογόνου, ενισχύουν την αγγειογένεση. Τα φλεγμονώδη κύτταρα όπως τα μακροφάγα, τα λεμφοκύτταρα, τα μαστοκύτταρα και οι ινοβλάστες παράγουν ουσίες που ενισχύουν την ανάπτυξη των αγγείων. Επιπλέον πολλές κυτταροκίνες που προάγουν τη φλεγμονή όπως ο TNF- α , έχουν και αγγειογενετική δράση. Ακόμα η αυξημένη ροή αίματος που παρατηρείται στην περιοχή της φλεγμονής ενισχύει την αγγειογένεση μέσω αύξησης της πίεσης που ασκείται στο ενδοθήλιο.

Η φλεγμονή και η αγγειογένεση μοιάζουν να είναι αλληλοεξαρτώμενες διαδικασίες. Οι περισσότεροι αγγειογενετικοί παράγοντες είναι και παράγοντες που προάγουν τη φλεγμονή. Η φλεγμονή και η αγγειογένεση μπορούν να συμβούν ανεξάρτητα, όμως η συνύπαρξή τους πιθανώς οδηγεί σε πιο σοβαρή, καταστροφική και επίμονη βλάβη. Η ανάπτυξη των νέων αγγείων στο φλεγμονώδη ιστό μπορεί να δημιουργήσει ένα ανώριμο κακορυθμισμένο δίκτυο με μειωμένη ικανότητα διάχυσης ανάλογα με την τοπική μεταβολική απαίτηση. Αποτελεσματική αναστολή της άναρχης αγγειογένεσης στα πρώιμα στάδια της φλεγμονής μπορεί να διατηρήσει την οργάνωση και την ωριμότητα της αγγείωσης ώστε αυτή να ανταποκρίνεται στις ιστικές απαιτήσεις.

(15)

Στοιχεία από έρευνες επίσης δείχνουν ότι οι παράγοντες που αναστέλλουν την αγγειογένεση αναστέλλουν και τη χρόνια φλεγμονή. Έτσι εισερχόμενοι σε βάθος και μελετώντας την αγγειογένεση ίσως να οδηγηθούμε στην ανάπτυξη πιο ειδικών και λιγότερο τοξικών φαρμακολογικών παραγόντων που θα μπορούσαν να αναστέλλουν ταυτόχρονα την αγγειογένεση και τη φλεγμονή, συμβάλλοντας στη θεραπευτική αντιμετώπιση των χρόνιων φλεγμονωδών νοσημάτων.

3. Αγγειογενετικοί παράγοντες

Η αγγειογένεση ρυθμίζεται από ενεργοποιητές και αναστολείς όπως παρουσιάζονται στους πίνακες 1 και 2 αντίστοιχα. Φυσιολογικά οι αναστολείς κυριαρχούν αποτρέποντας την συνεχή αγγειογενετική δραστηριότητα. Όταν όμως προκύπτει η ανάγκη για νέα αιμοφόρα αγγεία οι ενεργοποιητές της αγγειογένεσης παρουσιάζουν αυξημένη δραστηριότητα, ενώ το αντίθετο συμβαίνει με τους αναστολείς.

Πολλές πρωτεΐνες και διάφορα μόρια έχουν ταυτοποιηθεί ως αγγειογενετικοί παράγοντες και απελευθερώνονται κατόπιν ερεθίσματος για αύξηση ή αναστολή της αγγειογένεσης. Δύο πρωτεΐνες όμως φαίνεται να είναι οι σημαντικότερες για την

αγγειογένεση, ο αυξητικός παράγοντας του ενδοθηλίου των αγγείων (VEGF) και ο βασικός αυξητικός παράγοντας των ινοβλαστών (b-FGF), που και οι δύο παράγονται από πολλούς τύπους καρκινικών και φυσιολογικών κυττάρων. Οι παράγοντες αυτοί συνδέονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα με συγκεκριμένους υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης. Η σύνδεση στον κατάλληλο υποδοχέα ενεργοποιεί μια σειρά από πρωτεΐνες που διαβιβάζουν το ερέθισμα στον πυρήνα των ενδοθηλιακών κυττάρων. Το πυρηνικό αυτό σήμα τελικώς διεγείρει μια ομάδα γονιδίων στην παραγωγή των προϊόντων που απαιτούνται για την ανάπτυξη νέων ενδοθηλιακών κυττάρων και μία σειρά αντιδράσεων που έχουν ως τελικό αποτέλεσμα τη δημιουργία νέων αιμοφόρων αγγείων. Αρχικά τα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα παράγουν μεταλλοπρωτεΐνάσες, μία ειδική τάξη ενζύμων που αποδομούν τη μεσοκυττάρια ουσία και αποτελείται από πρωτεΐνες και πολυσακχαρίτες. Ο καταβολισμός της μεσοκυττάριας ουσίας επιτρέπει τη μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα καθώς μεταναστεύουν στους περιβάλλοντες ιστούς, διαιρούνται και οργανώνονται σε κοίλα σωληνάρια που εξελίσσονται σταδιακά σε ώριμο δίκτυο αιμοφόρων αγγείων.

Για την έναρξη της ανάπτυξης νέων αγγείων όμως δεν αρκεί μόνο η παρουσία των μορίων που προάγουν την αγγειογένεση αλλά και η καταστολή των αναστολέων της αγγειογένεσης, οι οποίοι φυσιολογικά παρεμποδίζουν την ανάπτυξη των αιμοφόρων αγγείων. Από τις ουσίες που αναστέλλουν την αγγειογένεση η αγγειοστατίνη, η ενδοστατίνη και η θρομβοσπονδίνη φαίνεται ότι είναι οι πλέον σημαντικές. Μια ισορροπία λοιπόν μεταξύ της συγκέντρωσης των αναστολέων και των ενεργοποιητών καθορίζει αν θα ακολουθήσει ανάπτυξη νέων αιμοφόρων αγγείων ή όχι.

(16)

Η ανακάλυψη των αναστολέων της αγγειογένεσης θέτει το ερώτημα αν τέτοια μόρια θα μπορούσαν θεραπευτικώς να διακόψουν ή να περιορίσουν την εμφάνιση νοσημάτων που παρουσιάζουν έντονη αγγειογενετική δραστηριότητα. Οι αναστολείς

της αγγειογένεσης όπως η ενδοστατίνη και η αγγειοστατίνη έχουν ήδη δοκιμασθεί στη θεραπεία και στην επιβράδυνση των μεταστάσεων στους όγκους. Τα τελευταία χρόνια οι ερευνητές καταβάλλουν μεγάλη προσπάθεια στην ανάλυση της μοριακής διαδικασίας που εμπλέκεται στην αγγειογένεση. Πολλοί παράγοντες που ελέγχουν το φαινόμενο έχουν αναγνωρισθεί και μερικοί αναλύονται παρακάτω.

3.1. Αυξητικός παράγοντας του ενδοθηλίου των αγγείων (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF)

Ο VEGF είναι πολυδύναμη κυτταροκίνη που εμπλέκεται στην παθογένεια ποικίλων νεοπλασματικών και μη νεοπλασματικών χρονίων νοσημάτων. Διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στα φλεγμονώδη νοσήματα, στη φυσιολογική και παθολογική αγγειογένεση, την ανάπτυξη και τη μετάσταση των όγκων, την αποκατάσταση της ιστικής βλάβης, τις αντιδράσεις επιβραδυνόμενης υπερευαισθησίας, τις αμφιβληστροειδοπάθειες, την ισχαιμία κ.τ.λ. (17)

Ο VEGF έχει μιτωτική δράση στο ενδοθήλιο των αγγείων προάγοντας τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση και αναστέλλοντας την απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων. Εκκρίνεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων, τα καρκινικά κύτταρα, τους ινοβλάστες, τα λεμφοκύτταρα και τα κύτταρα που συσσωρεύονται στην περιοχή της φλεγμονής. Την παραγωγή του VEGF επάγουν κυτταροκίνες που προάγουν τη φλεγμονή, διάφοροι αυξητικοί παράγοντες και η ιστική υποξία. Ο VEGF στις φυσιολογικές καταστάσεις είναι απαραίτητος για την ανάπτυξη της αγγείωσης του εμβρύου, την αποκατάσταση της βλάβης των ιστών, την ανάπτυξη του ενδομητρίου και του πλακούντα. Οι υποδοχείς Flt-1 και Flk-1 του VEGF εκφράζονται στα ενδοθηλιακά και μερικά καρκινικά κύτταρα. (18)

Οι Ito et al. επισημαίνουν ότι σε περιοχές με χρόνια φλεγμονή, ο VEGF παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του οιδήματος (19). Επίσης υπερέκφραση του VEGF-

mRNA από τα μονοπύρρηνα κύτταρα βρέθηκε σε αντιδράσεις επιβραδυνόμενης υπερευαισθησίας και τη ρευματοειδή αρθρίτιδα. Επιπλέον φαίνεται ότι είναι σημαντικός ρυθμιστής στα χρόνια κοκκιωματώδη νοσήματα. (17)

Η NC είναι εντερική νόσος που χαρακτηρίζεται ιστολογικά από την παρουσία κοκκιωμάτων. Το κοκκίωμα στη NC αναπτύσσεται σε όλα τα στρώματα του εντερικού τοιχώματος και είναι τύπου υπερευαισθησίας. Σε πρόσφατη μελέτη διαπιστώθηκαν σημαντικά αυξημένα επίπεδα VEGF στον ορό πασχόντων με NC και EK (20) που επιβεβαιώνουν τα ευρήματα και άλλων μελετών (18,21) και πιθανώς ο VEGF παίζει σημαντικό ρόλο στις ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις εντερικές νόσους (ΙΦΕΝ) και επεμβαίνει στην επαναφορά της κυκλοφορίας και στην αποκατάσταση της βλάβης στο φλεγμαίνον έντερο (22). Οι Griga et al. διαπίστωσαν αυξημένα επίπεδα VEGF στον ορό πασχόντων με ενεργό EK και NC σε σχέση με μη ενεργούς πάσχοντες. Οι Bousvaros et al. παρατήρησαν ότι ο VEGF σε παιδιά με NC απελευθερώνεται από τους φλεγμονώδεις ιστούς. Τέλος σύμφωνα με τους Wakefield et al. η εμφάνιση της NC ίσως να οφείλεται σε αγγειϊτιδικές αποφράξεις, οπότε οι κυτταροκίνες που προάγουν την αγγειογένεση όπως ο VEGF επαναφέρουν την κυκλοφορία και αποκαθιστούν τη βλάβη στο φλεγμαίνον έντερο. Ο VEGF επιπλέον, εμπλέκεται σε πλήθος παθολογικών καταστάσεων του γαστρεντερικού σωλήνα όπως τον καρκίνο του οισοφάγου, του στομάχου, του εντέρου και του παγκρέατος αλλά και το πεπτικό έλκος. Όσον αφορά το τελευταίο έχει παρατηρηθεί υπερέκφραση του VEGF στα χείλη του γαστρικού έλκους και φαίνεται ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην επούλωση του.

3.2. Βασικός αυξητικός παράγοντας των ινοβλαστών (basic Fibroblast Growth Factor, b-FGF)

Ο b-FGF είναι κυτταροπλασματικό πολυπεπτίδιο που επάγει τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων και των ινοβλαστών. Συμμετέχει στην

αναγέννηση των ιστών, την επούλωση της βλάβης, τη νέκρωση των κυττάρων και την αναδιοργάνωση της εξωκυττάριας ουσίας. Παράγεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα μαστοκύτταρα συνδέεται με την ηπαρίνη και ανευρίσκεται στον εγκέφαλο, την καρδιά, τα νεφρά, τα επινεφρίδια, το έντερο, τον πλακούντα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα μακροφάγα. (23)

Ο ακριβής μηχανισμός της απελευθέρωσής του από τα κύτταρα δεν έχει διευκρινιστεί, αλλά φαίνεται ότι απελευθερώνεται από νεκρά και βεβλαμένα κύτταρα και από υγιή κύτταρα με εξωκυττάρωση. Ο b-FGF συνδέεται με ποικίλους κυτταρικούς υποδοχείς και επάγει τη σύνθεση του ενδοκυττάρου DNA και την κυτταρική διαίρεση. Στα κύτταρα στόχους του συμπεριλαμβάνονται τα ενδοθηλιακά κύτταρα, οι ινοβλάστες, τα λεία μυϊκά κύτταρα, τα ολιγοδενδροκύτταρα και τα αστροκύτταρα. Σε *in vitro* μελέτες έχει παρατηρηθεί ότι αυξάνει τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών, των λείων μυϊκών και ενδοθηλιακών κυττάρων, ενισχύει τον σχηματισμό νέων αιμοφόρων αγγείων, επιδρά αυξητικά στα μόρια προσκόλλησης του ενδοθηλίου και μειώνει τη σύνθεση του κολλαγόνου. Εμπλέκεται και στη φυσιολογική αγγειογένεση, αν και η απουσία του δεν την επηρεάζει αρνητικά εφόσον πειραματόζωα με ανεπάρκεια b-FGF αναπτύσσονται φυσιολογικά. (24)

Ο b-FGF ακόμη διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αγγειογένεση που ακολουθεί κάποια ιστική βλάβη, την εναπόθεση κοκκιώδους ιστού, την αποκατάσταση της βλάβης σε φλεγμονώδεις καταστάσεις και την βιολογική συμπεριφορά πολλών και διαφορετικών τύπων κακοήθειας (24). Αύξηση του b-FGF των ιστών διαπιστώθηκε σε χρόνιες φλεγμονώδεις και κοκκιωματώδεις νόσους όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα και η σαρκοείδωση. Επίσης ανιχνεύθηκε στο φυσιολογικό λεπτό και παχύ έντερο και στον καρκίνο του εντέρου. Διαπιστώθηκε επίσης ότι προάγει την αποκατάσταση της βλάβης του βλεννογόνου του εντέρου μετά την καταστροφή του όπως και την επούλωση του πεπτικού έλκους σε πειραματόζωα (25). Οι Szabo et al. απέδειξαν ότι η χορήγηση από το στόμα ενός παραγώγου του b-FGF σε ποντίκια με δωδεκαδακτυλικό έλκος, οδήγησε

σε πλήρη ίαση των ελκών στο 62% των περιπτώσεων με σημαντική αύξηση του αριθμού των αιμοφόρων αγγείων στην κοίτη του έλκους χωρίς τη ταυτόχρονη χορήγηση αντιελκωτικών παραγόντων. Επιπλέον έχει παρατηρηθεί ότι η σουκραλφάτη επιταχύνει την επούλωση του έλκους μέσω της σύνδεσής της με τον b-FGF και την τοπική αύξηση της συγκέντρωσής του στον βλεννογόνο του δωδεκαδακτύλου.

Σε πάσχοντες με ΙΦΕΝ έχουν παρατηρηθεί σημαντικά αυξημένα επίπεδα b-FGF στον ορό σε σχέση με τον υγιή πληθυσμό. Παρατηρήθηκαν επίσης αυξημένα επίπεδα b-FGF σε ιστούς πασχόντων με ενεργό ΙΦΕΝ σε σχέση με ασθενείς χωρίς ενεργό νόσο. Ίσως η τοπική απελευθέρωση b-FGF λόγω βλάβης του ενδοθηλιακού κυττάρου προάγει τη διαδικασία της ιστικής αναγέννησης και επούλωσης, όμως η μακροχρόνια απελευθέρωση του από τους φλεγμονώδεις ιστούς ίσως να οδηγεί στην υπέρμετρη ανάπτυξη ινώδους ιστού. (23)

3.3. Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (Epidermal Growth Factor, EGF)

Ο EGF συντίθεται και εκκρίνεται κυρίως από τους σιελογόνους αδένες, αλλά και τα κύτταρα του βλεννογόνου που βρίσκονται κοντά σε ελκωτική βλάβη και προάγει τον πολλαπλασιασμό του επιθηλίου και την αποκατάσταση της βλάβης. Η αφαίρεση των σιελογόνων αδένων καθυστερεί την επούλωση του πεπτικού έλκους σε πειραματόζωα, ενώ η υποδόρια χορήγηση EGF επαναφέρει πλήρως τη διαδικασία επούλωσης. Επίσης ο EGF αυξάνει την έκκριση του VEGF και την έκφραση του VEGF-mRNA σε κυτταροκαλλιέργειες. Επιπλέον είναι ένας δυναμικά μιτωγόνος παράγοντας που ενισχύει τη σύνθεση του DNA και RNA, προάγοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό.

Τα επίπεδα του EGF στο αίμα είναι χαμηλά σε φυσιολογικές συνθήκες, ωστόσο η εμφάνιση ενός έλκους αυξάνει δραματικά τα επίπεδα του στους σιελογόνους αδένες και στον ορό μέσα σε μία μέρα αποδεικνύοντας έτσι ότι η βλεννογονία βλάβη ίσως να οδηγεί στη σύνθεση και έκκριση του από τους σιελογόνους αδένες. (26)

3.4. Αυξητικός παράγοντας μετασχηματισμού α (Transforming Growth Factor α , TGF- α)

Ο TGF- α είναι μιτωγόνο πολυπεπτιδίο ομόλογο δομικά και λειτουργικά με τον EGF και συντίθεται ως διαμεμβρανική πρωτεΐνη 160 αμινοξέων ενώ η ώριμη μορφή της είναι ένα πολυπεπτιδίο 50 αμινοξέων. Συνδέεται με τον ίδιο υποδοχέα με τον EGF και προκαλεί την τυροσινική φωσφορυλίωση του προάγοντας έτσι τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό.

Υπάρχουν άμεσες ενδείξεις ότι ο TGF- α ενισχύει τον πολλαπλασιασμό του επιθηλίου του παχέος εντέρου του ανθρώπου. Έχει ταυτοποιηθεί επίσης σε μεταλλαγμένες κυτταρικές σειρές, καρκινικούς ιστούς και φυσιολογικά κύτταρα όπως κερατινοκύτταρα και ινοβλάστες. Άλλες πηγές TGF- α είναι κύτταρα του ανοσολογικού συστήματος όπως τα μονοκύτταρα - μακροφάγα και τα ηωσινόφιλα.

Ο αριθμός των κυτάρων που περιέχουν TGF- α στον εντερικό βλεννογόνο είναι αυξημένος σε ασθενείς με ΕΚ τόσο κατά τη διάρκεια της ενεργού νόσου όσο και σε κλινική ύφεση. Πιθανώς η συνεχής παραγωγή TGF- α να ασκεί μιτωγόνο δράση στα κύτταρα του βλεννογόνου και να αυξάνει κατ' αυτό τον τρόπο τη πιθανότητα κακοήθους εξαλλαγής. (27)

3.5. Αυξητικός παράγοντας μετασχηματισμού β (Transforming Growth Factor β , TGF- β)

Ο TGF- β είναι κυτταροκίνη που παράγεται κυρίως από κύτταρα που συμμετέχουν στην ανοσολογική απάντηση. Συμβάλλει σε πλήθος βιολογικών λειτουργιών όπως ο έλεγχος της διαφοροποίησης, του πολλαπλασιασμού και της ενεργοποίησης των ανοσολογικών κυτάρων και των ανοσολογικών διαταραχών που

συνδέονται με τον καρκίνο, τα αυτοάνοσα νοσήματα, τις ευκαιριακές λοιμώξεις και την ίνωση. (28)

Ο TGF- β διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στην αποκατάσταση της βλάβης του επιθηλίου του εντέρου εφόσον οι περισσότερες κυτταροκίνες που προάγουν την αναδόμηση του βλεννογόνου ασκούν τη δράση τους μέσω μηχανισμού που εξαρτάται από αυτόν (29). Σε *in vivo* μελέτες έχει παρατηρηθεί ότι η ενδομυϊκή ένεση TGF- β -DNA και η τοπική χορήγηση TGF- β βελτιώνουν την φλεγμονή του εντέρου και επιταχύνουν την επούλωση της βλάβης του βλεννογόνου.

Αύξηση του TGF- β έχει βρεθεί τοπικά στο βλεννογόνο πασχόντων με ΙΦΕΝ (30) και σε επιθηλιακές βλάβες του εντέρου σε πειραματόζωα, αποδεικνύοντας ότι ο TGF- β ίσως να σχετίζεται με τη ρύθμιση των ανοσολογικών μηχανισμών και της αποκατάστασης της βλάβης του εντέρου (29). Οι Mark et al. ανέδειξαν ότι ο TGF- β εκφράζεται κυρίως στη βασική μεμβράνη του πάσχοντος βλεννογόνου σε περιπτώσεις ασθενών με ενεργό ΙΦΕΝ. Ωστόσο παρά τις σημαντικές διαφορές στην τοπική ιστική έκφραση δεν έχουν παρατηρηθεί σημαντικές διαφορές στα επίπεδα TGF- β στον ορό πασχόντων σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες, ούτε μεταξύ ασθενών με ενεργό και ανενεργό νόσο (29). Επιπλέον οι Babyatsky et al. παρατήρησαν ότι η έλλειψη παραγωγής TGF- β στο έντερο αυξάνει την πιθανότητα εμφάνισης ΕΚ (31).

3.6. Αυξητικός παράγοντας προερχόμενος από τα αιμοπετάλια (Platelet Derived Growth Factor, PDGF)

Ανακαλύφθηκε το 1974 από δύο ανεξάρτητες ομάδες των Ross et al. και των Kohler and Lipton και είναι γλυκοπρωτεΐνη που ανιχνεύεται στον ορό αλλά όχι στο πλάσμα του αίματος. Ο PDGF παράγεται από τα αιμοπετάλια, τα μακροφάγα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα κύτταρα των λείων μυϊκών ινών και τα κακοήθη κύτταρα. Στα κύτταρα στόχους επάγει την παραγωγή των εικοσανοειδών και ιδιαίτερα των

προσταγλανδινών PGI-2 και PGE-2, προκαλεί χημειοταξία ινοβλαστών και λείων μυϊκών ινών, βοηθά στην αποκατάσταση μιας ιστικής βλάβης, έχει μιτωτική δράση σε πολλά είδη κυττάρων και προκαλεί σύσπασση των λείων μυϊκών ινών των αγγείων. Είναι ο παράγοντας που ενοχοποιείται στην αιτιοπαθογένεια της πληκτροδακτυλίας. (32,33)

3.7. Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας προερχόμενος από τα αιμοπετάλια (Platelet Derived Epidermal Growth Factor, PDEGF) ή Θυμιδική φωσφορυλάση, TP

Το 1987 απομονώθηκε ένας καινούριος αγγειογενετικός παράγοντας, ο PDEGF. Πέντε χρόνια αργότερα αποδείχθηκε ότι πρόκειται για το γνωστό ενδοκυτταρικό ένζυμο τη Θυμιδική Φωσφορυλάση (TP). Η TP είναι ένζυμο που καταβολίζει τη θυμιδίνη σε θυμίνη και 1φωσφορική2δεοξουριδίνη. Τα επίπεδα έκφρασης της TP είναι χαμηλά σε φυσιολογικούς ιστούς αλλά πολύ υψηλά σε όγκους. Πολλές μελέτες απέδειξαν ότι η αυξημένη δραστηριότητα της σε όγκους είναι στενά συνδεδεμένη με υψηλή κακοήθεια, έντονη αγγειογένεση και φτωχή πρόγνωση. Ο μηχανισμός με τον οποίο δρα αγγειογενετικά στα ενδοθηλιακά κύτταρα παραμένει άγνωστος αλλά δεν φαίνεται να είναι ένας κλασσικός μιτωγόνος παράγοντας αφού δεν απαιτείται για τη δράση της κάποιος υποδοχέας της κυτταρικής μεμβράνης. Οι παράγοντες που εκκρίνονται από τα καρκινικά κύτταρα δρουν άμεσα στα ενδοθηλιακά κύτταρα, ωστόσο η TP δεν εκκρίνεται αλλά παραμένει μέσα στο καρκινικό κύτταρο και έχει προταθεί ότι πιθανώς να προκαλεί οξειδωτικό στρες στα καρκινικά κύτταρα και τα αναγκάζει να εκκρίνουν αγγειογενετικούς παράγοντες όπως η IL-8, ο VEGF και η MMP-1 που με τη σειρά τους προάγουν άμεσα την αγγειογένεση. Από την άλλη πλευρά, ο TNF- α , η IL-1 α και η IFN- γ προκαλούν αυξημένη παραγωγή TP σε καρκινικές σειρές.

Πέρα από το υψηλό επίπεδο έκφρασης σε κακοήθεις όγκους η TP εκφράζεται και σε φλεγμονώδεις ιστούς, όπως στη ρευματοειδή αρθρίτιδα και τη ψωρίαση όπου

θεωρείται ότι παίζει ρόλο στην αγγειογένεση. Ο ρόλος της στις ΙΦΕΝ είναι ασαφής, εκφράζεται σε κύτταρα του στρώματος όπως μακροφάγα και ινοβλάστες του εντερικού βλεννογόνου σε πάσχοντες με ΙΦΕΝ και ο βαθμός έκφρασής της είναι ανάλογος με το βαθμό της φλεγμονής. Αντίθετα στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων του φυσιολογικού βλεννογόνου δεν παρατηρείται δραστηριότητα της TP. (34,35)

3.8. Μεταλλοπρωτεϊνάσες της μεσοκυττάριας ουσίας (Matrix Metalloproteinases, MMPs)

Οι MMPs ανήκουν σε μεγάλη ομάδα ενζύμων που αποδομεί την εξωκυττάρια ουσία και τα συστατικά της βασικής μεμβράνης. Τουλάχιστον 17 ένζυμα έχουν ταυτοποιηθεί και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην εμβρυϊκή ανάπτυξη, την αναδόμηση των ιστών, την επέκταση του όγκου και την αγγειογένεση. Οι MMPs διαφέρουν γενετικά και είναι ταξινομημένες με βάση το υπόστρωμα που δρουν και τη δομή τους σε υποομάδες, όπως κολλαγενάσες, ζελατινάσες, στρωματολυσίνες και μεμβρανικού τύπου MMPs. Η έκφραση των περισσότερων ρυθμίζεται από ποικιλία κυτταροκινών και παραγόντων ανάπτυξης. Οι MMPs, όπως προκύπτει από τεχνικές mRNA in situ υβριδισμού, παράγονται από ινοβλάστες του στρώματος, λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων και περικύτταρα αλλά και φλεγμονώδη κύτταρα των όγκων, όπως μακροφάγα και πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα. Εκκρίνονται ως αδρανείς πρόδρομες ουσίες και ενεργοποιούνται σε πρωτεολυτικά ένζυμα στον εξωκυττάριο χώρο ή την κυτταρική μεμβράνη. Η δράση τους ελέγχεται από μηχανισμούς ενεργοποίησης και από ειδικούς (TIMPs 1-4) και μη ειδικούς ($\alpha 2$ μακροσφαιρίνη) αναστολείς. Η συνεχής αρνητική ρύθμιση σε μερικά νοσήματα αναστέλλεται, η δράση τους αυξάνει και αυτό επιτρέπει τη δημιουργία νέων ιστών και αγγείων.

Οι MMPs αποδομούν την εξωκυττάρια ουσία προάγοντας την εισβολή των όγκων, τις μεταστάσεις και τις ιστικές βλάβες σε φλεγμονώδεις καταστάσεις όπως η

ρευματοειδής αρθρίτιδα. Στη διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια ο ρόλος των MMPs είναι συνδεδεμένος με τη διαδικασία της αγγειογένεσης, ενώ στον καρκίνο και τη ρευματοειδή αρθρίτιδα η δραστηριότητα τους είναι αναπόσπαστο κομμάτι της ιστικής αναμόρφωσης και του σχηματισμού νέων αιμοφόρων αγγείων. Ειδικά στους όγκους, η υπερπαραγωγή των MMPs πιθανώς είναι υπεύθυνη για αυξημένη διηθητική ανάπτυξη και η έκφρασή τους πιθανώς έχει προγνωστική αξία.

Σε πρόσφατες μελέτες αναφέρονται αυξημένα επίπεδα MMPs σε περιοχές του εντέρου ασθενών με ΙΦΕΝ. Οι MMP-1 και MMP-13 εμπλέκονται στην επουλωτική διαδικασία που πραγματοποιείται στην βάση ενός έλκους ενώ οι MMP-7 και MMP-10 παίζουν σημαντικό ρόλο στην αναγέννηση του επιθηλίου. Η MMP-12 σχετίζεται με την κινητικότητα των μακροφάγων και την απόπτωση του επιθηλίου. Η MMP-9 διευκολύνει την εξαγγείωση των λευκών αιμοσφαιρίων και τη διήθηση των πρωτεϊνών του ορού στους ιστούς ενώ αυξάνει τοπικά στις φλεγμονώδεις βλάβες του βλεννογόνου ασθενών με ΙΦΕΝ. Η MMP-3 ανιχνεύθηκε στη βασική μεμβράνη ενώ η παρουσία της MMP-8 αναφέρθηκε σε ουδετερόφιλα, της MMP-9 σε μακροφάγα και των MMP-1 και MMP-3 σε ινοβλάστες. Επιπλέον η παραγωγή των MMP-1, MMP-3, MMP-8 και MMP-9 ήταν σημαντικά αυξημένη σε περιοχές με βλεννογόνια βλάβη σε σχέση με τους φυσιολογικούς ιστούς. Σε περιοχές με ίνωση παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη μείωση των MMP-1, MMP-3, MMP-8 και MMP-9. Από τις παρατηρήσεις αυτές συνάγεται ότι μια διαταραχή της ισορροπίας ανάμεσα στη σύνθεση και την αποδόμηση της εξωκυττάριας ουσίας που εμπλέκονται οι MMPs, μπορεί να οδηγήσει είτε σε υπερβολική καταστροφή ιστού και σχηματισμό έλκους είτε σε υπερβολική εναπόθεση κολλαγόνου και ίνωση. (36-39)

Συμπερασματικά λοιπόν οι MMPs, που απελευθερώνονται ως απάντηση σε φλεγμονώδη ερεθίσματα ίσως παίζουν σημαντικό ρόλο στην ιστική καταστροφή σε ασθενείς με ΙΦΕΝ και επομένως θεραπευτικός χειρισμός τους θα μπορούσε να

αναστείλει τη χρόνια φλεγμονή να επιταχύνει την επούλωση των ελκών και να προλάβει την ίνωση.

3.9. Αυξητικός παράγοντας των ηπατοκυττάρων (Hepatocyte Growth Factor, HGF)

Ο HGF παράγεται από μονοκύτταρα, αιμοπετάλια, ινοβλάστες, λεία μυϊκά κύτταρα, μαστοκύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα αλλά όχι από τα επιθηλιακά κύτταρα. Έκφραση του υποδοχέα του έχει διαπιστωθεί κυρίως στα επιθηλιακά κύτταρα του στομάχου, του λεπτού και του παχέος εντέρου υποδεικνύοντας έτσι ότι πιθανώς να παράγεται από τα κύτταρα του στρώματος και να δρα κυρίως με παρακρινικό τρόπο στα επιθηλιακά κύτταρα. Ο HGF προάγει τον πολλαπλασιασμό και τη μορφογένεση των επιθηλιακών κυττάρων και των ηπατοκυττάρων.

Αυξημένη έκφραση του HGF έχει παρατηρηθεί στον υποβλεννογόνο, μυϊκό και ορογόνο χιτώνα του στομάχου μετά από οξεία βλάβη του βλεννογόνου σε πειραματόζωα. Επιπλέον έχουν παρατηρηθεί αυξημένα επίπεδα HGF τοπικά στον βλεννογόνο πασχόντων με ΙΦΕΝ και σε ποντίκια μετά την πρόκληση πειραματικής κολίτιδας. Σε μία μελέτη με πειραματικά μοντέλα αρουραίων με ΙΦΕΝ, η χορήγηση του HGF περιόρισε τη διάρροια και την εντερική φλεγμονή. Τα παραπάνω συνηγορούν στο ότι ο HGF παίζει σημαντικό ρόλο στη μορφογένεση του γαστρεντερικού συστήματος και στην αναγέννηση των ιστών σε περιπτώσεις εντερικής φλεγμονής. Ωστόσο δεν έχουν παρατηρηθεί σημαντικές διαφορές στα επίπεδα HGF του ορού ανάμεσα σε πάσχοντες από ενεργό και ανενεργό ΙΦΕΝ ή τους υγιείς μάρτυρες. (29)

3.10. Ιντερλευκίνες (Interleukins, ILs)

Τα εξωγενή αντιγόνα προάγουν την παραγωγή ποικίλων κυτταροκινών από το εντερικό επιθήλιο, όπως οι Ιντερλευκίνες και ο Παράγοντας Νέκρωσης των Όγκων (TNF). Τα μακροφάγα, τα ουδετερόφιλα και τα επιθηλιακά κύτταρα παράγουν τις παραπάνω κυτταροκίνες που οδηγούν σε ενεργοποίηση των μορίων προσκόλλησης των επιθηλιακών κυττάρων, με επακόλουθη ενεργοποίηση και μετανάστευση φλεγμονωδών κυττάρων από την κυκλοφορία στους ιστούς όπου απελευθερώνουν με τη σειρά τους ουσίες που επεκτείνουν την ιστική βλάβη. Τα παραπάνω γεγονότα έχουν σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός ανοσολογικού φαύλου κύκλου. (40)

Παρόλο ότι η παθογένεια των ΙΦΕΝ παραμένει γενικώς άγνωστη, οι παραπάνω κυτταροκίνες ενισχύουν τη φλεγμονή και την ιστική βλάβη εξαιτίας της ενεργοποίησης και της χημειοτακτικής δράσης που ασκούν στα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα. Σε πολλές μελέτες έχουν παρατηρηθεί διαταραχές στα επίπεδα των διαφόρων ιντερλευκινών σε ασθενείς με ΙΦΕΝ με διαφορετικό μηχανισμό σε ΕΚ και ΝC.

Σε πάσχοντες με ΝC παρατηρείται μια πρώιμη αύξηση της έκφρασης IFN, IL-2 και IL-12 ακολουθούμενη από αύξηση σε TNF- α και IL-18 ενώ φαίνεται να υπάρχει και μια αντισταθμιστική αύξηση IL-10 και TGF- β (41). Επιπλέον, αυξημένα επίπεδα IL-6 παρατηρήθηκαν στον ορό πασχόντων με ενεργό ΝC (42). Επίσης τα αυξημένα επίπεδα της IL-1 β στον ορό πασχόντων από ΝC προηγούνται των υποτροπών της νόσου, υποδηλώνοντας ότι η υπερπαραγωγή της ίσως οδηγεί άμεσα στην εμφάνιση των συμπτωμάτων (43). Όμως ο ρόλος της IL-1 β στην εντερική φλεγμονή εξαρτάται από τα επίπεδά της και από τα επίπεδα του φυσικού της αναστολέα (ανταγωνιστής υποδοχέα). Η μεταξύ τους ισορροπία επηρεάζει την έκβαση της νόσου ενώ η χορήγηση του αναστολέα μειώνει τη σοβαρότητα της νόσου σε πειραματικά μοντέλα με εντερική φλεγμονή (44).

Πρόσφατες μελέτες έδειξαν αυξημένη έκφραση IL-18 τοπικά σε ΝC που επιβεβαιώνουν το σημαντικό ρόλο της IL-18 στην εντερική φλεγμονή (44). Οι Nakamura et al. επίσης επιβεβαίωσαν τη συνεργική δράση των IL-18 και IL-12 σε πειραματόζωα

που οδηγεί σε σοβαρή κολίτιδα και υψηλή θνητότητα (45). Σε πάσχοντες με ΕΚ παρατηρείται μια αύξηση της έκφρασης IL-5, IL-6, IL-10 και IL-13 (41). Στην ΕΚ η συγκέντρωση στον εντερικό βλεννογόνο των προφλεγμονωδών ιντελευκινών IL-1, IL-6, IL-8 αλλά και του TNF στη πάσχουσα περιοχή φαίνεται ότι συσχετίζεται με τη σοβαρότητα της νόσου (40).

Επίσης τα κύτταρα του βλεννογόνου του εντέρου σε πάσχοντες από ΙΦΕΝ εκκρίνουν μεγαλύτερες ποσότητες IL-6, IL-8 σε σχέση με τον φυσιολογικό βλεννογόνο. Σε πρόσφατες μελέτες παρατηρήθηκε αυξημένη έκφραση IL-8 στον εντερικό βλεννογόνο πασχόντων με ΙΦΕΝ και ιδιαίτερα σε περιοχές με ενεργό ΕΚ και η αύξηση αυτή φαίνεται ότι σχετίζεται με την έκταση της διήθησης από ουδετερόφιλα (46). Η πλειοψηφία των μελετών αναφέρει αυξημένη παραγωγή IL-8 σε βλεννογόνο πασχόντων με ενεργό νόσο σε σχέση με μη ενεργό, όσο και σε πάσχοντες σε ύφεση σε σχέση με φυσιολογικούς μάρτυρες. Έχει επίσης αναφερθεί αύξηση σε ασθενείς με ΙΦΕΝ σε σχέση με πάσχοντες από ευερέθιστο έντερο. Αυξημένη παραγωγή της IL-12 έχει βρεθεί επίσης σε ασθενείς με ΙΦΕΝ ιδιαίτερα σε ενεργό νόσο και ίσως να συνδέεται με την ενίσχυση της φλεγμονής. Επιπλέον η παραγωγή IL-17 είναι αυξημένη σε ασθενείς με ενεργό ΝΚ και ΕΚ και συνδέεται με τη δραστηριότητα της νόσου. Είναι γνωστό ότι οι IL-12 και IL-17 μόνες ή σε συνδυασμό με άλλες κυτταροκίνες προκαλούν την παραγωγή ποικίλων άλλων προφλεγμονωδών ουσιών όπως IL-6, IL-8 και TNF-α που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη φλεγμονή.

Η IL-10 είναι κυτταροκίνη που αναστέλλει τόσο την παρουσίαση του αντιγόνου όσο και την επακόλουθη απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτταροκινών και προτείνεται ως αντιφλεγμονώδης βιολογική θεραπεία σε ασθενείς με ΙΦΕΝ. Η χρήση της IL-10 και των νέων παρόμοιων με αυτή κυτταροκινών όπως των IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL-26, IL-28, IL-29 ίσως δώσει νέες προοπτικές στη θεραπεία των ΙΦΕΝ στο άμεσο μέλλον. (41)

3.11. Παράγοντας Νέκρωσης των Όγκων (Tumor Nekrosis Factor, TNF)

Ο TNF δυνητικά μπορεί να προκαλέσει τον πολλαπλασιασμό αλλά και τον θάνατο των μεταλλαγμένων κυττάρων μετά τη σύνδεσή του με μέλη της οικογένειας των υποδοχέων TNF-R1 και TNF-R2. Ο κυτταρικός θάνατος, η μεταγραφή μεταλλαγμένων γόνων και η παραγωγή άλλων κυτταροκινών απαιτούν τη διαμεσολάβηση του TNF-R1. Αντίθετα, η σύνδεση με τον TNF-R2 προάγει είτε ανεξάρτητα είτε σε συνεργασία με τον TNF-R1 τον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση των κυττάρων.

Ο TNF-α παράγεται από τα μονοκύτταρα, τα μακροφάγα και τα T-κύτταρα και παίζει ρόλο κλειδί στη άμυνα του ξενιστή. Συμμετέχει σε πολλές λειτουργίες όπως η συσσώρευση των ουδετεροφίλων, ο σχηματισμός του κοκκιώματος, η υπερπαραγωγή μορίων προσκόλλησης στα ενδοθηλιακά κύτταρα, η αύξηση της εντερικής διαπερατότητας και η αγγειογένεση. Επίσης συμβάλλει στη πρόκληση της βλάβης των ιστών σε φλεγμονώδη νοσήματα και ενισχύει την αντίδραση της οξείας φάσης προάγοντας τη παραγωγή IL-1β και IL-6.

Έχουν παρατηρηθεί αυξημένες συγκεντρώσεις TNF-α τοπικά στο βλεννογόνο του εντέρου ασθενών με ΙΦΕΝ. Οι συγκεντρώσεις του στον ορό είναι σημαντικά υψηλότερες σε ενεργό νόσο σε σχέση με ανενεργό και σε ανενεργό νόσο σε σχέση με τους φυσιολογικούς μάρτυρες, αν και κυμαίνονται σε χαμηλά επίπεδα. Τα αυξημένα επίπεδα του TNF-α στον ορό των ασθενών με NC έχει βρεθεί ότι προηγούνται των υποτροπών και ίσως η υπερπαραγωγή του οδηγεί άμεσα στην ανάπτυξη των συμπτωμάτων. Επίσης έχουν διαπιστωθεί αυξημένα επίπεδα TNF-α στα κόπρανα ασθενών με ενεργό NC σε σχέση με τους υγιείς. Από την άλλη μεριά έχει επίσης παρατηρηθεί ότι η παραγωγή του TNF-α στον εντερικό βλεννογόνο είναι περισσότερο αυξημένη σε πάσχοντες με NC σε σχέση με ΕΚ. Το γεγονός ότι ο TNF-α κατέχει κεντρικό ρόλο στη φλεγμονώδη διαδικασία ιδιαίτερα σε ασθενείς με NC ενισχύεται και

από τις κλινικές μελέτες με τη χρήση των αντί-TNF παραγόντων που αποδείχτηκαν ιδιαίτερα αποτελεσματικοί στα δύο τρίτα τουλάχιστον των πασχόντων με κορτικοεξαρτώμενη χρόνια ενεργό NC. (47,48)

3.12. Αγγειογενίνη (Angiogenin)

Η αγγειογενίνη κυκλοφορεί φυσιολογικά στο ανθρώπινο πλάσμα σε συγκεντρώσεις από 250 έως 360 ng/ml. Επάγει τη διαδικασία της αγγειογένεσης με ένα σύνθετο μηχανισμό σχηματισμού αιμοφόρων αγγείων που περιλαμβάνει ξεχωριστά αλλά αλληλοσυνδεδεμένα βήματα σε κυτταρικό και βιοχημικό επίπεδο όπως: 1) την ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων μέσω της δράσης ενός αγγειογενετικού ερεθίσματος, 2) την εισβολή των ενεργοποιημένων ενδοθηλιακών κυττάρων στους ιστούς και την μετανάστευση τους προς την πηγή του ερεθίσματος, 3) τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων για να σχηματίσουν μια νέα μικροκυκλοφορία. Η αγγειογενίνη προωθεί την πυρηνική μεταγραφή στα ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω υποδοχέα που αντιστοιχεί σε μια πρωτεΐνη επιφανείας 170 kDa και εκφράζεται κάτω από ειδικές συνθήκες στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Στη συνέχεια σε συνεργασία με την ακτίνη επηρεάζουν ειδικές κυτταρικές λειτουργίες στα διάφορα στάδια της αγγειογένεσης. Σε φυσιολογικές συνθήκες η κυκλοφορούσα αγγειογενίνη βρίσκεται υπό συνεχή έλεγχο για την αποτροπή ανεπιθύμητης αγγειογένεσης. (49)

3.13. Ερυθροποιητίνη (Erythropoietin, EPO)

Ο ρόλος της EPO στη διαδικασία της αγγειογένεσης δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα εκφράζουν υποδοχέα EPO και η πολυδύναμη αυτή κυτταροκίνη προάγει τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των

ενδοθηλιακών κυττάρων και ενισχύει την αγγειογένεση σε *in vitro* και *in vivo* μελέτες με πειραματόζωα. Η ανασυνδυασμένη ανθρώπινη EPO (rhEPO) φαίνεται ότι επάγει έναν προαγγειογενετικό φαινότυπο σε ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα, με πρώιμα (π.χ. αύξηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και παραγωγή MMP-2) όσο και όψιμα (διαφοροποίηση σε αγγειακούς σωλήνες) αγγειογενετικά αποτελέσματα. (50)

Σε συμπαγείς όγκους η έκφραση των υποδοχέων της EPO συνδυάζεται με αύξηση της αγγειογενετικής δραστηριότητας και παράλληλη αύξηση του βαθμού κακοήθειας. Η EPO πιθανώς βοηθάει στην ανάπτυξη των αγγείων κατά τη διάρκεια της αύξησης του όγκου μέσω παρακρινούς ή αυτοκρινούς οδού και με τον τρόπο αυτό συμβάλλει στην επιβίωση των υποξικών όγκων. Η υποξία από την άλλη επάγει τη μεταγραφή του γονιδίου της EPO που με τη σειρά της σχετίζεται με αυξημένη έκφραση του VEGF και αύξηση της αγγειογενετικής δραστηριότητας (50). Η ενδογενής EPO βρέθηκε αυξημένη στον ορό ασθενών με ΙΦΕΝ σε σχέση με υγιείς ανεξάρτητα από την ενεργότητα της νόσου (51).

3.14. Παράγοντας επαγόμενος από την υποξία (Hypoxia Inducible Factor, HIF-1)

Ο HIF-1 είναι ένας οξυγονοεξαρτώμενος μεταγραφικός πρωτεϊνικός παράγοντας που παίζει σημαντικό ρόλο στη φυσιολογική ανάπτυξη των θηλαστικών και την αγγειογένεση των όγκων. Είναι ετεροδιμερές και αποτελείται πάντα από μία υπομονάδα HIF-1 β και μία από τις υπομονάδες HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α . Η σταθερότητα και η δραστηριότητα της υπομονάδας HIF-1 α καθορίζονται από την ενδοκυτταρική συγκέντρωση οξυγόνου. Σε καταστάσεις με φυσιολογικό οξυγόνο η υπομονάδα HIF-1 α γρήγορα αποδομείται ενώ στην υποξία γίνεται σταθερή και αλληλεπιδρά με ποικίλους άλλους παράγοντες ρυθμίζοντας τη μεταγραφική δραστηριότητα. Τα γονίδια στα οποία στοχεύει σχετίζονται με την αύξηση της αγγειογένεσης, την επιβίωση των κυττάρων,

τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τον μεταβολισμό της γλυκόζης και του σιδήρου και την αντοχή στα φάρμακα. Συνδέεται επίσης με διαδικασίες που προάγουν την ογκογένεση.

Πειραματικές μελέτες απέδειξαν ότι ποντίκια με έλλειψη του HIF-1a παρουσίασαν εμβρυϊκή θνητότητα με παλινδρόμηση των αγγείων, ενώ μοντέλα ζώων με υπερπαραγωγή HIF-1a παρουσίασαν αυξημένη παροχή αίματος λόγω αγγειογένεσης σε ισχαιμικές περιοχές. Τα ποντίκια με υπερέκφραση του HIF-1a αποκτούν αυξημένο αριθμό αγγείων χωρίς αυτά να παρουσιάζουν υπερβολική διαπερατότητα όπως παρατηρήθηκε σε ποντίκια με υπερέκφραση του VEGF. Ο υποκείμενος μηχανισμός για τη διαφορά αυτή στην ποιότητα της αγγείωσης δεν είναι κατανοητός. Έχει αποδειχτεί επίσης ότι ο HIF-1 μεσολαβεί στην αγγειογενετική απόκριση στην υποξία ενεργοποιώντας τη μεταγραφή γονιδίων για τον VEGF και για το σύστημα αγγειοποιητίνη/Tie-2. Η ενεργοποίηση του συστήματος αυτού από τον HIF-1 ίσως εξηγεί τη διαφορά στην ποιότητα της αγγείωσης που προκύπτει από υπερέκφραση VEGF ή HIF-1a. (52)

3.15. Αγγειοποιητίνες (Angiopoietins, Ang)

Το σύμπλεγμα της αγγειοποιητίνης με τον υποδοχέα της Tie-2 φαίνεται ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αγγειογένεση σε φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις ρυθμίζοντας την ομοιόσταση, την ωρίμανση και την αναδιοργάνωση του αγγειακού δικτύου. Έχουν ταυτοποιηθεί δύο είδη υποδοχέων αγγειοποιητίνης, ο Tie-1 και ο Tie-2, με μεγάλη ομολογία αμινοξέων μεταξύ τους και εκφράζονται κυρίως από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Έχουν ταυτοποιηθεί επίσης τέσσερα είδη αγγειοποιητίνης που συνδέονται με τον υποδοχέα Tie-2, η Ang-1, η Ang-2, η Ang-3, και η Ang-4, από τα οποία έχουν μελετηθεί περισσότερο οι Ang-1 και Ang-2 οι οποίες συνδέονται με τον υποδοχέα με παρόμοια συγγένεια.

Η Ang-1 εκφράζεται κυρίως από τα περικύτταρα, τους ινοβλάστες και τα λεία μυϊκά κύτταρα και δρα στα ενδοθηλιακά κύτταρα με παρακρινικό τρόπο. Κατά τη σύνδεσή της με τον υποδοχέα, αυτός αυτοφωσφορυλιώνεται και προάγει τη μετανάστευση και επιβίωση των ενδοθηλιακών κυττάρων. Ποντίκια με ανεπάρκεια Ang-1 και Tie-2 έχουν φαινότυπους που χαρακτηρίζονται από εμβρυϊκή θνητότητα με σοβαρές διαταραχές στο σχηματισμό και την ωρίμανση των αγγείων.

Η Ang-2 παράγεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα μετά από κατάλληλη ενεργοποίηση τους και η δράση της στα κύτταρα αυτά ποικίλει σημαντικά ανάλογα εάν δρα με αυτοκρινή ή παρακρινή τρόπο. Η Ang-2 δεν είναι ικανή να επάγει την αυτοφωσφορυλίωση του Tie-2, αντίθετα φαίνεται να δρα ως φυσικός ανταγωνιστής της Ang-1 όπως προέκυψε από την παρατήρηση σε πειραματόζωα με υπερπαραγωγή Ang-2. Κυρίως δρα ως αποσταθεροποιητής των συνάψεων μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων και των περικυττάρων και προάγει την αγγειογένεση με την παρουσία ενεργοποιητών όπως ο VEGF ενώ την καταστέλλει επί απουσίας τους. Έτσι οι Ang-1 και Ang-2 δεν έχουν πάντα αντίθετες δράσεις στον Tie-2 υποδοχέα αλλά κάτω από ορισμένες συνθήκες η Ang-2 είναι ικανή να τον ενεργοποιήσει και να επάγει την αγγειογένεση. Η μηχανιστική βάση των αντίθετων αυτών δράσεων παραμένει άγνωστη και ίσως τελικά οι διαφορετικές δράσεις των Ang-1 και Ang-2 να μην οφείλονται στον τρόπο σύνδεσης με τον υποδοχέα αλλά σε άλλους παράγοντες πιθανώς σχετικούς με το κύτταρο-στόχο. Υπερπαραγωγή της Ang-2 έχει αναφερθεί κατά τη διάρκεια παθολογικής αγγειογένεσης και κυρίως σε όγκους.

Η αγγειοποιητίνη και ο Tie-2 εκφράζονται σε πλήθος συμπαγών όγκων όπως ο καρκίνος του προστάτη, το γλοίωμα του εγκεφάλου, το γαστρικό καρκίνωμα, ο μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα και ο καρκίνος του μαστού με προγνωστική αξία σε κάποιες από αυτές τις καταστάσεις. (53)

3.16. Ινσουλινοειδής αυξητικός παράγοντας και αυξητική ορμόνη (Insulin-like Growth Factor and Growth Hormone , IGF και GH)

Σε συνθήκες αυξημένου καταβολισμού όπως σε τραύμα, έγκαυμα, ενδοτοξιναιμία και φλεγμονή παρατηρείται επίκτητη αντοχή στην GH και ένα σταθερό εύρημα σ' αυτές τις συνθήκες είναι η μειωμένη IGF-1 παρά τη φυσιολογική ή αυξημένη έκκριση GH. Ο λόγος της μείωσης είναι ασαφής. Φυσιολογικά η κυκλοφορούσα IGF παράγεται κυρίως από το ήπαρ κάτω από την άμεση δράση της GH και ασκεί αναβολικές δράσεις σε ποικίλους περιφερικούς ιστούς. Η πρωτεΐνη με την οποία συνδέεται, η IGFBP-3, παράγεται στο ήπαρ υπό τον έλεγχο της GH και έτσι τα κυκλοφορούντα επίπεδα των IGF-1 και IGFBP-3 είναι καλοί δείκτες της περιφερικής δράσης της GH.

Λίγες μελέτες έχουν μελετήσει την IGF σε παιδιά και εφήβους με ΙΦΕΝ και παρατήρησαν γενικά χαμηλά επίπεδα IGF-1 παρά τη φυσιολογική ή αυξημένη σύγχρονη έκκριση GH. Τα ευρήματα αυτά μπορούν να εξηγήσουν την καθυστερημένη ανάπτυξη που συχνά αποτελεί εξωεντερική εκδήλωση παιδιών με ΙΦΕΝ. Με δεδομένο όμως ότι εκτός από τη GH, η IGF-1 ελέγχεται και από άλλους παράγοντες όπως η νηστεία και η διατροφική κατάσταση, προτάθηκε ότι ο υποσιτισμός ίσως να συμβάλλει μερικώς σε χαμηλή IGF-1 και καθυστέρηση της ανάπτυξης χωρίς όμως να ικανοποιεί πλήρως ως εξήγηση.

Σε μελέτες με ενήλικες πάσχοντες με ΙΦΕΝ και ικανοποιητική διατροφική κατάσταση τα κυκλοφορούντα επίπεδα της IGF-1 και της πρωτεΐνης IGFBP-3 ήταν επίσης μειωμένα. Τα χαμηλά επίπεδα της IGF-1 έχει προταθεί ότι μπορεί να οφείλονται σε άμεση αναστροφή δράση των κυκλοφορούντων φλεγμονωδών κυτταροκινών. Όμως ο μηχανισμός μέσω του οποίου οι φλεγμονώδεις κυτταροκίνες προκαλούν επίκτητη αντοχή GH, οδηγώντας σε χαμηλά IGF-1 επίπεδα δεν είναι σαφής. Ίσως οι κυτταροκίνες δρουν άμεσα σε ηπατοκυτταρικό επίπεδο. Η αναστολή των αναβολικών

δράσεων των GH και IGF-1 κάτω από τις συνθήκες καταβολισμού που επικρατούν στη φλεγμονή είναι ωφέλιμη για την επιβίωση του ατόμου. Ο μηχανισμός για τα χαμηλά επίπεδα IGFBP-3 ίσως είναι παρόμοιος με εκείνον για IGF-1 αφού η σύνθεση και των δύο πεπτιδίων ελέγχεται από τη GH.

Ο ρόλος της GH ως αγγειογενετικός παράγοντας αρχικά φάνηκε σε σχέση με τους μηχανισμούς ανάπτυξης της διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας. Η αρχική υπόνοια προήλθε από την παρατήρηση ότι η νεοαγγείωση του αμφιβληστροειδή σε διαβητικούς ασθενείς μειώθηκε μετά από υποφυσεκτομή. Αν και θα μπορούσε η μείωση αυτή να οφείλεται στην απουσία άλλων ορμονών της υπόφυσης, ωστόσο ο ρόλος της GH υποστηρίχθηκε από τη σχέση ανάμεσα στη διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια και τα επίπεδα GH στην κυκλοφορία. In vitro και in vivo μελέτες επιβεβαίωσαν το ρόλο της GH ως αγγειογενετικού παράγοντα και απέδειξαν ότι ενισχύει τον πολλαπλασιασμό του ενδοθηλιακού κυττάρου.

Μεσολαβητές στη δράση της GH αποτελούν οι IGF-1 και IGF-2 που θεωρήθηκαν άμεσοι αγγειογενετικοί παράγοντες. Η δράση της GH στη νεοαγγείωση του αμφιβληστροειδή προωθείται μέσα από συστηματική ή τοπική παραγωγή των IGFs η οποία ενισχύει τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων. Η παρουσία υποδοχέων IGF και το υπεύθυνο γονίδιο για την παραγωγή IGF έχει πιστοποιηθεί στα ενδοθηλιακά κύτταρα.

Παρόλο ότι πολλές μελέτες μαρτυρούν τον αγγειογενετικό ρόλο των GH και IGF, ωστόσο η δράση τους αυτή δε φαίνεται να είναι σταθερή. Επηρεάζεται ίσως από τα τοπικά ή τα κυκλοφορούντα επίπεδα, από τις ιδιαίτερες συνθήκες που επικρατούν στους ιστούς, από το είδος του ιστού και την παρουσία ή όχι υποδοχέων, από τα πειραματικά μοντέλα, από τη σύνθετη ενδοκρινολογική κατάσταση της νόσου και από άλλους τοπικούς και συστηματικούς παράγοντες. (54)

3.17. Κυκλοοξυγενάσες, COX-1 και COX-2

Παρατηρούνται δύο ισομερή κυκλοοξυγενάσης, η COX-1 και η COX-2. Είναι ένζυμα που συμμετέχουν στο μεταβολισμό του αραχιδονικού οξέος για την παραγωγή μιας σειράς προϊόντων όπως οι προσταγλανδίνες, οι λευκοτριένες και άλλα εικοσανοειδή (55). Σε κυτταρικές σειρές έχει αποδειχθεί η σχέση τους με την ανάπτυξη, την εισβολή του όγκου και τις μεταστάσεις στον καρκίνο του παχέος εντέρου. Σε πρόσφατες επιδημιολογικές μελέτες αποδείχθηκε ότι η χορήγηση COX-2 αναστολέων έχει ανασταλτικό αποτέλεσμα στην εμφάνιση του καρκίνου αυτού.

Η COX-1 εκφράζεται σε πολλούς ιστούς, κυρίως στο γαστρεντερικό σωλήνα, το ήπαρ τα νεφρά και τα αιμοπετάλια, οδηγεί στη παραγωγή κυτταροπροστατευτικών και αντιφλεγμονωδών προσταγλανδινών και παίζει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της ακεραιότητας του βλεννογόνου και τη συνοχή των κυττάρων. Η COX-2 εκφράζεται μόνο σε περιοχές φλεγμονής ως απόκριση σε προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες και αυξητικούς παράγοντες, κυρίως σε εγκέφαλο, αγγειακό ενδοθήλιο νεφρού, μήτρα και ωοθήκες. Τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ) αναστέλλουν τη σύνθεση των προσταγλανδινών μέσω και των δύο ισομερών (56).

Οι πειραματικές μελέτες των Seed and Tsujii καταδεικνύουν τη σχέση της COX-2 με την αγγειογένεση. Η COX-2 επάγει την αγγειογένεση του όγκου και σχετίζεται με την αιματογενή διασπορά, χωρίς όμως να έχει διευκρινισθεί ο ακριβής μηχανισμός. Φαίνεται όμως, όπως αποδείχτηκε σε *in vitro* μελέτες, ότι είναι απαραίτητη η παρουσία των ενδοθηλιακών κυττάρων που υπερεκκρίνουν COX-2, ενώ η αγγειογένεση αναστέλλεται με τη προσθήκη εκλεκτικών COX-2 αναστολέων. Επίσης η COX-2 προάγει την παραγωγή των αγγειογενετικών παραγόντων VEGF και b-FGF και κατά συνέπεια προωθεί τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων και τον σχηματισμό νέων αγγείων. (55)

Σε μελέτες έχει αποκαλυφθεί η παρουσία της COX-2 στο βλεννογόνο πασχόντων με ΙΦΕΝ. Οι Singer et al. απέδειξαν ότι η COX-1 παράγεται από τα

εντερικά επιθηλιακά κύτταρα σε παρόμοια επίπεδα σε πάσχοντες με ΙΦΕΝ και υγιείς, ενώ η COX-2 δεν ανευρίσκεται σε φυσιολογικό βλεννογόνο, παρά μόνο σε βλεννογόνο εντέρου ασθενών με ΙΦΕΝ (57). Επίσης οι Hendel and Nielsen απέδειξαν ότι οι πάσχοντες με ενεργό νόσο έχουν αυξημένα επίπεδα COX-2, ενώ τα επίπεδα της COX-1 δεν επηρεάζονται από τη δραστηριότητα της νόσου (58).

3.18. Λεπτίνη (Leptin)

Η λεπτίνη είναι μία πολυδύναμη ορμόνη με πολλαπλή επίδραση στην αγγειογένεση. Αφενός μεν επάγει τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων και αφετέρου αναστέλλει τον αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο και έτσι προάγει την αγγειογένεση, ωστόσο λίγα είναι γνωστά ως προς τους μηχανισμούς με τους οποίους αυτή προάγει την ενδοθηλιακή εισβολή και μετανάστευση. Η λεπτίνη ρυθμίζει την πρόσληψη τροφής, μεταβολικές και ενδοκρινικές απεκκρίσεις και παίζει ρυθμιστικό ρόλο στην αιμοποίηση, τη φλεγμονή και την ανοσολογική απόκριση. Τα επίπεδα λεπτίνης συσχετίζονται με τη παχυσαρκία, την υπερινσουλιαιμία και την αντοχή στην ινσουλίνη σε πάσχοντες από μη ινσουλινοεξαρτώμενο σακχαρώδη διαβήτη. Είναι από τους κυριότερους παράγοντες που δυνητικά συμβάλλουν στην ανάπτυξη των αγγειακών διαταραχών στο διαβήτη με ακραίο παράδειγμα τη διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια.

Σε πάσχοντες με ΙΦΕΝ συχνά παρατηρείται κακή θρέψη και απώλεια βάρους. Δυνητικές αιτίες είναι η μειωμένη πρόσληψη τροφής, η αυξημένη ενεργειακή κατανάλωση και η μειωμένη απορρόφηση θρεπτικών συστατικών. Αιτίες της μειωμένης πρόσληψης τροφής είναι η ανορεξία, η αποφυγή τροφής λόγω των συμπτωμάτων (πόνος, ναυτία ή απόφραξη) και η επίδραση των φαρμάκων. Από αυτά, η ανορεξία είναι η πιο σημαντική αιτία. (59)

Σε πειραματική μελέτη με ποντίκια φάνηκε ότι ίσως η ανορεξία που παρατηρείται σε ΙΦΕΝ οφείλεται στην αυξημένη παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως ο TNF- α , η IL-1 και η IL-6. Πρόσφατα προτάθηκε η λεπτίνη ως δυνητικός μεσολαβητής στην ανορεξία τη σχετική με ΙΦΕΝ. Σε στέρηση τροφής, η συγκέντρωση της στον ορό γρήγορα μειώνεται λόγω ενεργειακού ελλείμματος κι αυτή η μείωση οδηγεί σε μειωμένο βασικό μεταβολισμό, μειωμένη διάθεση και δραστηριότητα προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί η απώλεια βάρους σώματος και αυξημένη αναζήτηση τροφής. Σε ένα πειραματικό μοντέλο ποντικών με ανεπάρκεια IL-2 και ΙΦΕΝ με αυξημένες προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες παρουσιάστηκε παράδοξη αύξηση της λεπτίνης μετά από στέρηση τροφής, δείχνοντας ότι στις ΙΦΕΝ η άμυνα της λεπτίνης ενάντια στη μείωση τροφής καταργείται και ίσως η λεπτίνη είναι μερικώς υπεύθυνη για την ανορεξία στα παραπάνω νοσήματα. (60)

3.19. Θρομβοσπονδίνες (Thrombospondins)

Οι θρομβοσπονδίνες ανήκουν σε μια οικογένεια πέντε γλυκοπρωτεϊνών που ρυθμίζουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη προσκόλληση και τη μετανάστευση των κυττάρων και κατανέμονται ευρέως στον εξωκυττάριο χώρο πολλών ιστών. Δύο από τα μέλη της οικογένειας που ονομάζονται TSP-1 και TSP-2, είναι φυσιολογικοί αναστολείς της αγγειογένεσης.

Η TSP-1 είναι τριμερής γλυκοπρωτεΐνη 420-kDa που εκκρίνεται από μονοκύτταρα, μακροφάγα, ινοβλάστες, καρκινικά κύτταρα, ενδοθηλιακά και λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων. Εκφράζεται σε ιστούς που βρίσκονται κοντά στα αγγεία, αλλά και στον ενδαγγειακό χώρο, τόσο στο πλάσμα όσο και στα μονοκύτταρα και τα κοκκία-α των αιμοπεταλίων. Η TSP-1 αλληλεπιδρά με το ενδοθήλιο με άγνωστο έως τώρα μηχανισμό παρόλο ότι αναγνωρίζει πολλούς υποδοχείς επιφανείας των ενδοθηλιακών κυττάρων και πιθανώς συνδέεται με μηχανισμούς τυροσινικής φωσφορυλίωσης. Τα

αποτελέσματα της στην αγγειογένεση πραγματοποιούνται μέσω ρύθμισης του πολλαπλασιασμού, της προσκόλλησης και της μετανάστευσης των ενδοθηλιακών κυττάρων, του σχηματισμού τριχοειδών και της απόπτωσης. Η ικανότητά της να αλληλεπιδρά με ποικίλους υποδοχείς κυτταρικής επιφανείας αλλά και με ποικίλες στρωματικές πρωτεΐνες είναι υπεύθυνη για τις διαφορετικές και συχνά αντίθετες λειτουργίες της. Αντιφατικά ευρήματα προέκυψαν από μελέτες, σύμφωνα με τα οποία η TSP-1 μπορεί και δρα είτε ως ενεργοποιητής είτε ως αναστολέας της αγγειογένεσης κι αυτό ίσως οφείλεται σε διαφορές στην προέλευση και τα είδη των ενδοθηλιακών κυττάρων, καθώς και στις διαφορετικές θέσεις σύνδεσης και τα διαφορετικά πειραματικά μοντέλα. Αντιφατικός φάνηκε ο ρόλος της TSP-1 και στους όγκους, όπου προέκυψαν διαφορετικά αποτελέσματα ανάλογα με τον τύπο του καρκίνου, οδηγώντας άλλοτε σε επιδείνωση και άλλοτε σε αναστολή του όγκου. (61)

Η TSP-2 έχει μεγάλη ομοιότητα στη δομή της με την TSP-1 και αλληλεπιδρά με μεγάλο αριθμό ίδιων υποδοχέων. Φαίνεται ότι επιδρά στη ρύθμιση του πολλαπλασιασμού, της προσκόλλησης και της μετανάστευσης φυσιολογικών και μεταλλαγμένων κυττάρων. Στη διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης αλλά και στον ενήλικα η TSP-2 εκφράζεται σε διαφορετικό χρόνο και σε διαφορετικούς τόπους από την TSP-1. Η έκφραση της TSP-2 προεξάρχει κυρίως σε περιοχές χονδρογένεσης, οστεογένεσης και σε ανώριμο συνδετικό ιστό και το γονίδιό της ρυθμίζεται από διαφορετικούς αυξητικούς παράγοντες και ορμόνες. Ωστόσο όπως η TSP-1 έτσι και η TSP-2 εκφράζεται έντονα σε αιμοφόρα αγγεία υπό ανάπτυξη καταδεικνύοντας ένα δυνητικό ρόλο στη ρύθμιση της αγγειογένεσης. (62)

3.20. Ενδοστατίνη (Endostatin)

Η ενδοστατίνη είναι καρβοξυ-τελικό κλάσμα του κολλαγόνου XVIII μοριακού βάρους 20-kDa και αναστέλλει την αγγειογένεση σε *in vitro* και *in vivo* μελέτες.

Προκύπτει μετά από πρωτεολυτική διάσπαση του κολλαγόνου από πρωτεάσες και ανευρίσκεται στο αγγειακό τοίχωμα, τα αιμοπετάλια και ελεύθερη στο πλάσμα. Το μέσο επίπεδο της κυκλοφορούσας στο πλάσμα ενδοστατίνης στους υγιείς είναι 10-50 ng/ml.

Επηρεάζει τις λειτουργίες των ενδοθηλιακών κυττάρων, όπως τον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και την επιβίωσή τους και επιπλέον επιδρά στη δραστηριότητα των πρωτεϊνών, τη διάσπαση των κυτταρικών συνάψεων και την αποδόμηση του ινώδους δικτύου της ακτίνης, ρυθμίζει τη δραστηριότητα του πλασμινογόνου και προκαλεί ταχύτατη μείωση της ενεργοποίησης πολλών γονιδίων σε αναπτυσσόμενα ενδοθηλιακά κύτταρα.

Ο ρόλος της ενδοστατίνης στον καρκίνο δεν έχει αποσαφηνισθεί. Στον καρκίνο των ωοθηκών, η υψηλότερη έκφραση του γονιδίου της ενδοστατίνης σε σχέση με τις φυσιολογικές ωοθήκες σχετίζεται με πτωχή πρόγνωση. Αντίθετα, στο ηπατοκυτταρικό καρκίνο η αυξημένη έκφραση του κολλαγόνου XVIII σχετίζεται με μικρότερο μέγεθος όγκου και καλύτερη πρόγνωση. Επιπλέον, τα αυξημένα επίπεδα ενδοστατίνης στο πλάσμα ασθενών με προεμμηνοπαυσιακό καρκίνο του μαστού σχετίζονται με καλή πρόγνωση, ενώ το αντίθετο συμβαίνει στο σάρκωμα.

Πειραματόζωα με διαφορετικούς τύπους καρκίνου αντιμετωπίστηκαν με εγχύσεις ενδοστατίνης. Έπειτα από μερικούς κύκλους θεραπείας, ο αρχικός πρωτοπαθής όγκος σχεδόν εξαφανίσθηκε και τα πειραματόζωα δεν ανέπτυξαν ανοχή στην ενδοστατίνη μετά από επανάληψη της έγχυσης. Σε μελέτες με ποντίκια με ρευματοειδή αρθρίτιδα φάνηκε να περιορίζει την έκταση της νόσου ή να αναστέλλει την ανάπτυξή της μέσω αναστολής της αγγειογένεσης. (63)

3.21. Αγγειοστατίνη (Angiostatin)

Η ανάπτυξη ενός συμπαγούς όγκου και οι μεταστάσεις βασίζονται στην αγγειογένεση και για το λόγο αυτό η μελέτη των αναστολέων της αγγειογένεσης

αποτελεί ένα βήμα στη θεραπεία και τον έλεγχο του καρκίνου. Η αγγειοστατίνη είναι προϊόν της αποδόμησης του πλασμινογόνου. Είναι ένας αναστολέας της αγγειογένεσης, τμήμα μεγαλύτερης μη αγγειογενετικής πρωτεΐνης. Ο ενζυμικός μηχανισμός και η διαδικασία διάσπασης του πλασμινογόνου σε αγγειοστατίνη δεν έχει πλήρως αποσαφηνισθεί. Όμως πρόσφατες μελέτες σε πειραματόζωα και καρκινικά κύτταρα ανθρώπου ανέδειξαν ότι η διαδικασία καταλύεται από μια πρωτεάση της σερίνης, μια μεταλλοελαστάση των μακροφάγων και την MMP-3.

Η ένεση φυσικής αγγειοστατίνης σε ποντίκια απέδειξε ότι υποστρέφει τους όγκους. Ωστόσο, δεν είναι γνωστοί οι μοριακοί μηχανισμοί με τους οποίους η αγγειοστατίνη ρυθμίζει την συμπεριφορά του ενδοθηλιακού κυττάρου. Πρόσφατα έχει αναφερθεί ότι η αγγειοστατίνη λειτουργεί ως επαγωγέας της ενδοθηλιακής απόπτωσης καταργώντας την ικανότητα του ενδοθηλιακού κυττάρου να αντιστέκεται σε καταστάσεις με χαμηλή τάση οξυγόνου μειώνοντας έτσι την επιβίωση του. (64)

3.22. Βαζοστατίνη (Vasostatin)

Η βαζοστατίνη είναι αμινοτελικό κλάσμα της ανθρώπινης calreticulin. Η calreticulin είναι πρωτεΐνη που ταυτοποιήθηκε αρχικά στο σαρκοπλασματικό δίκτυο των σκελετικών μυών και χρησιμεύει ως αποθήκη των ιόντων ασβεστίου στο ενδοπλασματικό δίκτυο.

Σε *in vitro* μελέτες έχει παρατηρηθεί ότι αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων, ενώ *in vivo* καταργεί την αγγειογένεση και προλαμβάνει ή μειώνει την ανάπτυξη των όγκων. Η βαζοστατίνη αναστέλλει άμεσα και ειδικά την αύξηση των ενδοθηλιακών κυττάρων αλλά έχει ελάχιστη επίδραση σε άλλα κύτταρα. Μελέτες απέτυχαν να στηρίξουν το ρόλο του οξειδίου του αζώτου ως μεσολαβητή σε αυτή τη διαδικασία. Ωστόσο, πιστεύεται ότι η αναστολή του πολλαπλασιασμού των

ενδοθηλιακών κυττάρων είναι ο κύριος τρόπος με τον οποίο η βαζοστατίνη καταργεί την αγγειογένεση και την αύξηση του όγκου. (65)

3.23. Προλακτίνη και Πλακουντιακό Γαλακτογόνο (Prolactin and Placental Lactogen, PRL και PL)

Πρόσφατα διαπιστώθηκε ότι η PRL είναι σε θέση να ενισχύσει την αγγειογενετική διαδικασία. Μελέτες έδειξαν ότι η δράση της στην αγγειογένεση μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε έμμεσα, μέσω ενίσχυσης άλλων αγγειογενετικών παραγόντων προερχόμενων από μη ενδοθηλιακούς τύπους κυττάρων, είτε άμεσα στα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα οποία στο τελευταίο στάδιο ανάπτυξης εκφράζουν τον υποδοχέα της PRL. Όμως ο υποδοχέας αυτός δεν ανιχνεύεται σε όλους τους τύπους των ενδοθηλιακών κυττάρων, ενώ η έκφρασή του στα ενδοθηλιακά κύτταρα παρατηρήθηκε σε πιο προχωρημένο στάδιο της αγγειογενετικής διαδικασίας ή κάτω από ειδικές συνθήκες. Ίσως λοιπόν τα αποτελέσματα της PRL να καθορίζονται από τον τύπο και τις τοπικές συνθήκες του αγγειακού ενδοθηλίου, το στάδιο ανάπτυξης και το χρησιμοποιούμενο μοντέλο.

Ένα κλάσμα της PRL, η 16K PRL, δρα ως αναστολέας της αγγειογένεσης σε *in vitro* και *in vivo* μελέτες. Η αντιαγγειογενετική της δράση πραγματοποιείται είτε έμμεσα είτε άμεσα. Αναστέλλει τον ενεργοποιημένο από VEGF και b-FGF πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων, αναστέλλει την ανάπτυξη των ενδοθηλιακών κυττάρων και την αλληλεπίδραση μεταξύ τους και με την εξωκυττάρια ουσία, αναστέλλει την αποδόμηση της εξωκυττάριας ουσίας και προάγει την απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων. Σε πρόσφατη μελέτη παρατηρήθηκε ότι είναι σε θέση να αναστείλει την αγγείωση των όγκων μέσω αναστολής της αγγειογένεσης. Ο μηχανισμός της δράσης

δεν είναι πλήρως κατανοητός, ωστόσο πιθανολογείται ότι έχει ειδικό υποδοχέα διαφορετικό από την PRL.

Τα αποτελέσματα *in vivo* και *in vitro* μελετών δείχνουν ότι η 16K PRL δρα ως ειδικός αντιαγγειογενετικός παράγοντας, ενώ η PRL είναι είτε ανενεργή είτε δρα αγγειογενετικά κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες. Οι δράσεις τους εξαρτώνται από διαφορετικούς υποδοχείς. Η συμβολή της καθεμιάς ορμόνης στην αγγειογένεση θα προσδιοριζόταν από τη δραστηριότητα του ενζύμου του υπεύθυνου για τη διάσπαση της PRL και από την τοπική έκφραση των ειδικών υποδοχέων στο ενδοθήλιο ή σε άλλους τύπους κυττάρων διαφορετικών ιστών.

Η αγγειογένεση είναι καθοριστική κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του πλακούντα. Οι ορμόνες του πλακούντα ίσως ρυθμίζουν την αναδιοργάνωση και την αύξηση των μητρικών και εμβρυϊκών αγγείων. Σε έρευνες διαπιστώθηκε ότι το PL συνδέεται με υψηλή συγγένεια με τον υποδοχέα της PRL και μιμούμενο τη δράση της προάγει την αγγειογένεση κάτω από τις ίδιες συνθήκες που ενεργοποιούν την PRL. Επιπλέον, ένα κλάσμα του PL, το 16K PL, παραγόμενο από ανασυνδυασμένο DNA, συνδέεται με τον υποδοχέα της 16K PRL και αναστέλλει την αγγειογένεση παρόμοια με τη 16K PRL. Δεν έχει βέβαια αποδειχτεί η *in vivo* παραγωγή του κλάσματος 16K PL, ωστόσο η PL και 16K PL έχουν δράσεις αντίστοιχες με PRL και 16K PRL και δρουν μέσω των ίδιων υποδοχέων. (66)

3.24. Ειδικό Προστατικό Αντιγόνο (Prostatic Specific Antigen, PSA)

Το PSA είναι μία πρωτεάση της σερίνης και μέλος της οικογένειας των ενζύμων της ανθρώπινης καλλικρεΐνης. Τα επίπεδα του PSA στον ορό αποτελούν ευαίσθητο δείκτη για τη διάγνωση και τη παρακολούθηση της θεραπείας του καρκίνου του προστάτη. Ωστόσο, το PSA δεν προέρχεται ειδικά και αποκλειστικά από το

προστατικό επιθήλιο εφόσον έχει βρεθεί και σε πάσχοντες από καρκίνο του πνεύμονα αλλά και σε γυναίκες με καρκίνο του μαστού και της μήτρας. Επίσης, έχει ανιχνευθεί PSA στον ορό σε υγιείς γυναίκες αλλά και πάσχουσες από καλοήθη και κακοήθη νοσήματα του μαστού. Επιπλέον, όπως και στους άνδρες, το PSA στον καρκίνο του μαστού της γυναίκας ρυθμίζεται από τα ανδρογόνα και την προγεστερόνη. Σε μία μελέτη, οι πάσχουσες από καρκίνο του μαστού με υψηλά επίπεδα PSA είχαν καλύτερη πρόγνωση. Η έρευνα όμως έχει αποδείξει ότι το PSA πέρα από το ρόλο του στον καρκίνο του προστάτη έχει και αντιαγγειογενετικές ιδιότητες. Επιδρά στον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και την εισβολή του ενδοθηλιακού κυττάρου στους ιστούς. Έτσι έχει διατυπωθεί η υπόθεση, ότι οι αυξημένες συγκεντρώσεις του PSA σχετίζονται με τη προσπάθεια του οργανισμού να πολεμήσει τον καρκίνο παράγοντας τις δικές του αντιαγγειογενετικές πρωτεΐνες. Ωστόσο με την πάροδο του χρόνου ο καρκίνος προχωρεί παρά την αύξηση του PSA, γιατί οι τοπικοί ενεργοποιητές της αγγειογένεσης υπερτερούν της δράσης του και κυριαρχούν. Οι παρατηρήσεις αυτές συμφωνούν με άλλες που δείχνουν παράδοξη αύξηση του PSA σε καταστάσεις που συνοδεύονται από ίαση και το ότι η παραγωγή του PSA είναι ένας λόγος για τη χαρακτηριστικά αργή ανάπτυξη του καρκίνου του προστάτη. Επιπλέον, τα φάρμακα Θαλιδομίδη και TNP470 προκαλούν σημαντικά αυξημένες συγκεντρώσεις PSA in vitro και αυτό ίσως εξηγεί την αντιαγγειογενετική τους δράση. (67)

3.25. Τροπονίνη – I (Tn-I)

Συστατικά του κυτταρικού σκελετού όπως η ακτίνη-α και η τουμπουλίνη-β, φαίνεται ότι συμμετέχουν και σε άλλες διαδικασίες πέρα από το βασικό τους ρόλο. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η παρατήρηση ότι η ακτίνη που βρίσκεται στην

εξωτερική επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων λειτουργεί ως συνδετική πρωτεΐνη για την αγγειογενίνη. Επιπλέον, κάποια ισομερή της τροπομοσίνης έχουν κατασταλτική δράση στα κύτταρα των όγκων.

Η τροπονίνη-I (Tn-I) είναι μια υπομονάδα του συμπλέγματος της τροπονίνης (οι άλλες δύο υπομονάδες είναι Tn-C και Tn-T) που όπως και η τροπομοσίνη είναι υπεύθυνη για την ασβεστιοεξαρτώμενη ρύθμιση της σύσπασης των ραβδωτών μυών. Τα μικρονημάτια αποτελούνται από ακτίνη, το σύμπλεγμα της τροπονίνης και α-τροπομοσίνη σε αναλογία 7:1:1. Η Tn-I είναι ειδικός αναστολέας της αγγειογένεσης σε *in vitro* και *in vivo* μελέτες. Οι μηχανισμοί με τους οποίους η Tn-I αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων και την αγγειογένεση δεν είναι γνωστοί. Φαίνεται όμως ότι η αλλαγή του σχήματος του ενδοθηλιακού κυττάρου μετά από απορύθμιση του κυτταροσκελετού μπορεί να έχει επιπτώσεις στην ανάπτυξη του ενδοθηλίου και τον σχηματισμό του τριχοειδούς αγγείου. Η ύπαρξη ενός ενδοθηλιακού υποδοχέα ίσως ευθύνεται για τη δράση της Tn-I.

Η Tn-I απελευθερώνεται στον διάμεσο ιστό και τη κυκλοφορία του αίματος κατά τη διάρκεια καρδιαγγειακής βλάβης και αποτελεί ευαίσθητο δείκτη για το βαθμό της μυοκαρδιακής καταστροφής. Ίσως λόγω της ικανότητας της να αναστέλλει την αγγειογένεση, η δυσκολία της επαναιμάτωσης του ισχαιμικού μυοκαρδίου μπορεί να οφείλεται μερικώς τουλάχιστον στα υψηλά τοπικά επίπεδα αυτού του αγγειογενετικού αναστολέα. (68)

3.26. 2 – Μεθοξυοιστραδιόλη (2-ME)

Η 2-ME προκύπτει από τον μεταβολισμό της οιστραδιόλης. Είναι ο μεγαλύτερος σε ποσότητα μεταβολίτης της οιστραδιόλης στον ορό του αίματος και οι συγκεντρώσεις της όπως και της οιστραδιόλης, αποκτούν τη μέγιστη τιμή τους στη μέση του καταμήνιου

κύκλου. Παρουσιάζει μεγάλες συγκεντρώσεις στο ωοθυλακικό υγρό, όπου ρυθμίζει τις λειτουργίες διαφόρων τύπων κυττάρων με αυτοκρινή και παρακρινή τρόπο.

Ο σχηματισμός νέων αιμοφόρων αγγείων είναι υποχρεωτικός για την επιτυχή ανάπτυξη και αύξηση των ωοθυλακίων και η 2-ME είναι ένας δυνητικός αναστολέας της αγγειογένεσης και της αύξησης των όγκων. Έχει παρατηρηθεί ότι αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και την εισβολή των ενδοθηλιακών κυττάρων *in vitro* και έχει αντιαγγειογενετικά αποτελέσματα *in vivo*. Δρα στα πολλαπλασιαζόμενα ενδοθηλιακά και καρκινικά κύτταρα και διαθέτει αντιμιτωτικές και αποπτωτικές ικανότητες.

Οι αγγειογενετικοί αναστολείς ταξινομούνται σε άμεσους και έμμεσους, οι πρώτοι στοχεύουν το ενδοθήλιο και οι δεύτεροι τους παραγόμενους αγγειογενετικούς ενεργοποιητές. Η 2-ME αρχικά ταξινομήθηκε ως άμεσος αναστολέας εξαιτίας της αντιπολλαπλασιαστικής και αποπτωτικής της δράσης στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Πρόσφατα φάνηκε ότι η 2-ME έχει και έμμεσα αντιαγγειογενετικά αποτελέσματα μέσω αναστολής των HIF-1a και HIF-2a σε καρκινικά και ενδοθηλιακά κύτταρα. Η αναστολή της πυρηνικής μεταγραφής του HIF-1a προκαλεί αναστολή της μεταγραφής και μείωση της έκφρασης VEGF. Τα αποτελέσματα της είναι δόσοεξαρτώμενα και παρατηρούνται σε κύτταρα εκτεθειμένα σε νορμοξικές ή υποξικές συνθήκες. (69)

3.27. 4^{ος} Αιμοπεταλιακός Παράγοντας (Platelet Factor – 4, PF-4)

Ο PF-4 είναι πρωτεΐνη που παρουσιάζει ομολογία αμινοξέων με την β-θρομβοσφαιρίνη και την IL-8. Η κύρια πηγή προέλευσης του PF-4 είναι τα μεγακαρυοκύτταρα και τα αιμοπετάλια και έχει παρατηρηθεί ότι εξουδετερώνει την αγγειογενετική δραστηριότητα άλλων παραγόντων σε περιπτώσεις ενεργοποίησης των

αιμοπεταλίων και για το λόγο αυτό ο PF-4 έχει χαρακτηριστεί ως αναστολέας της αγγειογένεσης.

Ο PF-4 αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων και την αγγειογένεση. Επιπλέον, αναστέλλει την αγγειογενετική δραστηριότητα στα ενεργοποιημένα από άλλους παράγοντες ενδοθηλιακά κύτταρα και την ανάπτυξη των όγκων μέσω μηχανισμού που εξαρτάται από την αγγειογένεση (70). Ο PF-4 βρέθηκε αυξημένος στον ορό και το πλάσμα ασθενών με ΙΦΕΝ, ανεξάρτητα από την ενεργότητα της νόσου (51).

4. Θεραπευτικές εφαρμογές της αγγειογένεσης

Οι ογκολόγοι χρησιμοποιούν αντιαγγειογενετικά φάρμακα από πολλά χρόνια. Η Ταμοξιφίνη, που αρχικά θεωρήθηκε ως ανταγωνιστής των υποδοχέων της οιστραδιόλης, παρατηρήθηκε ότι αναστέλλει την αγγειογενετική δράση του VEGF και του FGF στη χοριοαλλαντοϊκή μεμβράνη πουλερικών. Αυτό το αποτέλεσμα δεν αναστράφηκε με περίσσεια οιστραδιόλης, αποδεικνύοντας ότι ο αγγειογενετικός μηχανισμός δεν εξαρτάται από τη συγκέντρωση της οιστραδιόλης ή τον οιστρογονικό υποδοχέα. Η θεραπεία με Ταμοξιφίνη οδήγησε σε μείωση του όγκου μεγαλύτερη από το 50%, ενώ η αναστολή της αγγειογένεσης ανιχνεύθηκε πριν διαπιστωθεί μείωση στο μέγεθος του όγκου.

Η κατανόηση της αγγειογένεσης ενθάρρυνε την ανάπτυξη παραγόντων που έχουν ως στόχο τη διαδικασία της αγγειογένεσης, πολλοί από τους οποίους έχουν εισαχθεί στην κλινική πράξη και αναφέρονται συγκεντρωτικά στον πίνακα 3. Μέρος του ενθουσιασμού για τους παράγοντες αυτούς οφείλεται στην μεγάλη ποικιλία δυνητικών στόχων, σε αντίθεση με το σχετικά μικρό αριθμό της συνήθους χημειοθεραπείας. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η χρήση των αναστολέων της αγγειογένεσης. Οι

αναστολείς αυτοί εντάσσονται σε διάφορες κατηγορίες αναλόγως του μηχανισμού δράσης τους.

Σχετικά με τις ΙΦΕΝ, είναι γνωστό ότι στην παθογένειά τους εμπλέκονται γενετικοί, περιβαλλοντικοί και ανοσολογικοί παράγοντες. Πρόσφατα προτάθηκε ότι μια παθολογική ενεργοποίηση του ανοσολογικού συστήματος του βλεννογόνου ως απόκριση σε αντιγόνα, αποτελεί το κλειδί στην παθογένεια των ΙΦΕΝ. Η σύγχρονη θεραπευτική αντιμετώπιση δεν είναι ούτε αρκετή ούτε αποτελεσματική. Μακροχρόνια θεραπεία με μη ειδικά αντιφλεγμονώδη φάρμακα όπως αμινοσαλικυλικά, κορτικοστεροειδή και ανοσοκατασταλτικά συχνά συνοδεύεται από ανεπιθύμητες και δυνητικά σοβαρές παρενέργειες. Νέες βιολογικές θεραπείες στοχεύουν σε ειδικές παθοφυσιολογικές διαδικασίες. Διάφορες θεραπευτικές στρατηγικές δοκιμάζονται στην κλινική πρακτική, περιλαμβάνοντας ανασυνδυασμένες κυτταροκίνες με αντιφλεγμονώδη δράση (IFN- α , IL-10, IL-11,) και ειδικά μονοκλωνικά αντισώματα ενάντια σε προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες (TNF, IL-12). (71)

5. Φάρμακα που τροποποιούν την αγγειογένεση (πίνακας 3)

5.1. Αναστολείς πρωτεασών

Η αποδόμηση της βασικής μεμβράνης και του περιβάλλοντος στρώματος από τις μεταλλοπρωτεϊνάσες κατέχει σημαντική θέση στην αγγειογένεση. Για το λόγο αυτό η πρώτη κατηγορία αναστολέων της αγγειογένεσης αφορά ένζυμα που καταβολίζουν την εξωκυτάρια ουσία, τις μεταλλοπρωτεϊνάσες. Η αναστολή της μετανάστευσης των ενδοθηλιακών κυττάρων στους πέριξ ιστούς και του πολλαπλασιασμού τους προς νέα αγγειακά στελέχη από τα φάρμακα που αναστέλλουν τις MMPs προκαλεί διακοπή της αγγειογένεσης. (71)

Το Marimastat είναι ένας συνθετικός MMPs-αναστολέας χαμηλού μοριακού βάρους που συνδέεται με το άτομο ψευδαργύρου της ενεργού θέσης των MMPs και αναστέλλει τη δράση πολλών από αυτές. Σε μία μελέτη έχει αναφερθεί ότι η χρήση του σε συνδυασμό με σουλφασαλαζίνη οδήγησε σε σημαντική μείωση της ιστικής βλάβης και της φλεγμονής του εντέρου σε TNBS-επαγόμενη εντερίτιδα σε αρουραίους. (71)

Παρατηρήθηκε ότι η Φεναντρολίνη (phenantroline), ουσία που περιέχει ψευδάργυρο και συνδέεται με τις MMPs αναστέλλοντας την ενζυμική τους δράση, μείωσε την ιστική βλάβη σε δύο πειραματικά μοντέλα IΦEN, παρόλο ότι οι φλεγμονώδεις δείκτες παρέμειναν αμετάβλητοι. Το θεραπευτικό αποτέλεσμα της δεν φαίνεται ότι σχετίζεται με τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες του ψευδαργύρου και πιθανώς η μέτρηση της ενζυμικής δράσης και έκφρασης των MMPs να διευκρινίσει το μηχανισμό δράσης της φεναντρολίνης. (39)

Στους συνθετικούς MMPs-αναστολείς συμπεριλαμβάνονται επίσης τα Batimastat, BE16627B, Matlystatin B, Ilomastat και το BMS-275291. (71)

5.2. Αναστολείς προαγγειογενετικών παραγόντων και ανταγωνιστές υποδοχέων

Η δεύτερη κατηγορία αναστολέων της αγγειογένεσης περιλαμβάνει μόρια που παρεμβαίνουν στο στάδιο της «αντίδρασης-καταρράκτη» που πυροδοτεί την αγγειογένεση. Σ' αυτήν την κατηγορία περιλαμβάνονται τα αντισώματα έναντι του VEGF που μπλοκάρουν τον υποδοχέα του. Οι αναστολείς των Flk-1 και Flt-1 υποδοχέων του VEGF αποτελούν θεραπευτικό στόχο. Ο συνθετικός αναστολέας της Flk-1 κινάσης, ο SU-5416, σε παρατηρήσεις in vitro αναστέλλει την VEGF-εξαρτώμενη ανάπτυξη των ενδοθηλιακών κυττάρων και η συστηματική χορήγηση του σε πειραματόζωα δεν εμφάνισε ιδιαίτερη τοξικότητα. Το ZD6474, επίσης αναστολέας της Flk-1 τυροσινικής κινάσης που χορηγείται από του στόματος, έχει επίσης δοκιμαστεί στην κλινική πράξη. (71)

Η INF-a επίσης αναστέλλει την παραγωγή του b-FGF και του VEGF και έχει δοκιμασθεί στη κλινική πράξη. Η IFN-a είναι πολυδύναμη κυτταροκίνη με αντιιική, ανοσορυθμιστική και αντιαγγειογενετική δράση που αναστέλλει επίσης τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Σε κλινικές μελέτες έχει διαπιστωθεί ότι έχει θέση στη θεραπεία πολλών αγγειοϋπερπλαστικών νοσημάτων, όπως το σάρκωμα Kaposi και τα αιμαγγειώματα. Η αντιαγγειογενετική αυτή δράση ίσως συνδέεται με τη ρύθμιση της κινητικότητας και επιβίωσης του ενδοθηλίου και με την αναστολή κυτταροκινών που σχετίζονται με την αγγειογένεση, όπως ο b-FGF, η IL-8 και η MMP-9. Επίσης αναστέλλει τη μεταγραφή του υπεύθυνου γονιδίου για τη παραγωγή του VEGF. (72)

Το Angiozyme, ένα συνθετικό ριβόσωμα που καταστρέφει το m-RNA του Flt-1 υποδοχέα, έχει δοκιμασθεί σε προκλινικές μελέτες και παρατηρήθηκε ότι αναστέλλει την ανάπτυξη των όγκων. Επίσης το PNU-145156 E (επίσημα FCE26644) είναι ένα μη κυτταροτοξικό παράγωγο με αντιογκική δράση και έχει διαπιστωθεί ότι δρα μέσω σχηματισμού μη αναστρέψιμου συμπλέγματος με αυξητικούς και αγγειογενετικούς παράγοντες. (71)

Η νεομυκίνη είναι αμινογλυκοσιδικό αντιβιοτικό που αναστέλλει την μεταγραφή της αγγειογενίνης στον πυρήνα των ενδοθηλιακών κυττάρων και αποτρέπει τον επαγόμενο μέσω της αγγειογενίνης πολλαπλασιασμό των ανθρώπινων ενδοθηλιακών κυττάρων με δοσοεξαρτώμενο τρόπο. Στα 50 μM , αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό αλλά δεν επηρεάζει την βιωσιμότητα των κυττάρων. Άλλα αμινογλυκοσιδικά αντιβιοτικά δεν παρουσιάζουν καμία επίδραση στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων. Η νεομυκίνη λοιπόν μπορεί δυνητικά να χρησιμοποιηθεί στην αντιαγγειογενετική θεραπεία. (73)

Πολλές μελέτες απέδειξαν την αποτελεσματικότητα του infliximab, που είναι χειμερινό αντίσωμα ενάντια στον TNF-a, στη θεραπεία της NC. Σε πάσχοντες με ενεργό NC μια απλή έγχυση του infliximab φάνηκε αποτελεσματική σε μεγάλο αριθμό ασθενών με αξιοσημείωτη ιστολογική βελτίωση ενώ σε πάσχοντες με ύφεση της νόσου

διαπιστώθηκε ότι είναι αποτελεσματικό στη διατήρηση της ύφεσης. Ο μηχανισμός δράσης παραμένει άγνωστος και άγνωστο το γιατί κάποιοι ασθενείς επωφελούνται και κάποιοι όχι. Σύμφωνα με μελέτες οι ασθενείς που δεν ανταποκρίνονται έχουν πριν τη θεραπεία υψηλότερες συγκεντρώσεις TNF- α στον ορό του αίματος. Η παρουσία του TNF- α στον ορό είναι πιθανώς το αποτέλεσμα διάχυσης από τους πάσχοντες ιστούς και είναι ανάλογη της τοπικής παραγωγής. Έτσι η διαφορετική ικανότητα των κυττάρων του στρώματος να εκκρίνουν TNF- α καθορίζει και την ανταπόκριση στην anti-TNF- α αγωγή. Ωστόσο τα υψηλότερα επίπεδα TNF- α δεν εξηγούν όλες τις περιπτώσεις μη ανταπόκρισης στη θεραπεία, εφόσον υπήρξαν περιπτώσεις ανθεκτικές στη θεραπεία με χαμηλά επίπεδα TNF- α στον ορό που οφείλεται πιθανώς στο ότι στις περιπτώσεις αυτές επεμβαίνουν και άλλοι μηχανισμοί. (47)

Τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ) όπως η ασπιρίνη, η ινδομεθακίνη, η ιβουπροφένη κ.α., χρησιμοποιούνται ευρέως στη θεραπεία του πόνου, της αρθρίτιδας και των καρδιαγγειακών νοσημάτων. Τα ΜΣΑΦ αναστέλλουν την παραγωγή των προσταγλανδινών μέσω αναστολής της δράσης των COX-1 και COX-2, γεγονός που συχνά οδηγεί σε γαστροδωδεκαδακτυλικά έλκη με αιμορραγία ή και διάτρηση. Η COX-1 όπως προαναφέραμε οδηγεί στην παραγωγή κυτταροπροστατευτικών και αντιφλεγμονωδών προσταγλανδινών και συμβάλλει στη διατήρηση της ακεραιότητας του βλεννογόνου και της συνοχής των κυττάρων. (56)

Οι Mahadevan et al. αναφέρουν ότι οι COX-2 αναστολείς είναι γενικά καλά ανεκτοί από τους πάσχοντες με ΙΦΕΝ και θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στη θεραπεία μειώνοντας τη φλεγμονή χωρίς να επηρεάσουν την COX-1, η αναστολή της οποίας θα έχει ως αποτέλεσμα τη τοξική δράση στο γαστρεντερικό σύστημα και το σχηματισμό ελκών (74). Παρόλα αυτά σε μελέτες με πειραματόζωα με εντερίτιδα προέκυψαν αντικρουόμενα αποτελέσματα από τη χρήση COX-2 αναστολέων που άλλοτε προκαλούν έξαρση και άλλοτε βελτίωση της νόσου. Σε ασθενείς με ΙΦΕΝ διαπιστώθηκε ότι η παρουσία COX-2 συνδέεται με ενεργό φλεγμονή. Έτσι εάν η

παρουσία COX-2 στο έντερο συνδέεται με την προσπάθεια αναγέννησης και επούλωσης της ιστικής βλάβης, τότε η χρήση COX-2 αναστολέων αναμένεται να έχει παρόμοιο ρίσκο με τη χρήση ΜΣΑΦ. (56)

Η Θαλιδομίδη, το γνωστό καταπραυντικό φάρμακο που χρησιμοποιήθηκε τη δεκαετία του 1950 ως υπνωτικό και που αποσύρθηκε γιατί προκαλούσε συγγενείς διαμαρτίες των νεογνών όταν χορηγήθηκε σε εγκύους, έχει παρατηρηθεί ότι αποτρέπει τα ενδοθηλιακά κύτταρα στο σχηματισμό νέων αιμοφόρων αγγείων. Η Θαλιδομίδη τα τελευταία χρόνια έχει δοκιμαστεί σε πολλές παθολογικές καταστάσεις, όπως την αντίδραση μοσχεύματος – ξενιστή (graft versus host disease), τη ρευματοειδή αρθρίτιδα, το γαγγραινώδες πυόδερμα, τη σαρκοειδωση, τον χρόνια δερματικό ερυθματώδη λύκο, το πεπτικό έλκος, το σύνδρομο απίσχνασης, το σάρκωμα Kaposi, τη νόσο Behcet και το κακόηθες γλοίωμα. (75)

Μεμονωμένα άρθρα αναφέρουν όφελος σε ασθενείς με ΕΚ και ΝC αλλά δεν έχει γίνει έως σήμερα συστηματική έρευνα. Μία μελέτη από τους Vasiliauskas et al. αναφέρει τα αποτελέσματά της σε πάσχοντες με μέτρια ή σοβαρή κορτικοεξαρτώμενη ΝC, ενώ η ομάδα των Ehngrais et al. περιγράφουν τα αποτελέσματα με υψηλότερες δόσεις Θαλιδομίδης σε πάσχοντες από ΝC ανθεκτική σε κλασσικά θεραπευτικά σχήματα. Και οι δύο μελέτες καταλήγουν στο ότι η Θαλιδομίδη ίσως να είναι χρήσιμη στη θεραπεία των πασχόντων με ΝC ανθεκτική σε άλλη θεραπεία. Οι παρενέργειες που καταγράφηκαν στις παραπάνω εργασίες ήταν καταστολή ακόμα και σε χαμηλές δόσεις, δερματίτιδα, κνησμός, δυσκοιλιότητα, περιφερικό οίδημα και υπέρταση. Ενώ στη μελέτη των Vasiliauskas et al. αναφέρεται και μια περίπτωση ουδετεροπενίας. Η Θαλιδομίδη επίσης μπορεί να προκαλέσει περιφερική νευροπάθεια αν και η συχνότητα αυτής της παρενέργειας δεν έχει διευκρινιστεί. (76,77)

Υπάρχει η αντίληψη ότι η Θαλιδομίδη έχει θεραπευτικά αποτελέσματα συγκρίσιμα με εκείνα του infliximab γιατί αναστέλλει την έκφραση του TNF μέσω δράσης στο mRNA. Επίσης φαίνεται ότι μειώνει την έκφραση της IL-12, αναστέλλει τις

ιντεγκρίνες, μειώνει τη μετανάστευση των λευκοκυττάρων μέσω αναστολής της πρωτεϊνικής κίνησης C και εμποδίζει την αγγειογένεση. Η Θαλιδομίδη είναι δυνατό να αντικαταστήσει το infliximab στους ασθενείς με ενεργό νόσο και δυσανεξία στο φάρμακο ωστόσο θα πρέπει να εκτιμηθεί το πλήρες φάσμα των παρενεργειών της πριν τη χορήγησή της. Η Θαλιδομίδη μειώνει τη παραγωγή του TNF-α και της IL-12 χωρίς να επιφέρει καμία διαταραχή σε άλλες κυτταροκίνες όπως η IL-1β και η IL-6. Η καταστολή του TNF-α και της IL-12 με Θαλιδομίδη φαίνεται ότι είναι δοσοεξαρτώμενη και οδηγεί σε κλινική βελτίωση σε δύο εβδομάδες και σε μείωση της δραστηριότητας της νόσου μετά από τέσσερις εβδομάδες χορήγησης. Η μείωση της παραγωγής των δύο αυτών κυτταροκινών που παρεμβαίνουν κεντρικά στη διαδικασία της φλεγμονής στους ασθενείς με ΙΦΕΝ εξηγεί γιατί η Θαλιδομίδη είναι πιο αποτελεσματική από άλλους εκλεκτικούς αναστολείς μεμονωμένων παραγόντων. (78)

5.3. Ενδοθηλιακές τοξίνες και φυσικοί αναστολείς

Η τρίτη κατηγορία αναστολέων της αγγειογένεσης περιλαμβάνει μόρια που αναστέλλουν άμεσα την ανάπτυξη των ενδοθηλιακών κυττάρων. Το αντιβιοτικό TNP-470 (AGM-1470) έχει διαπιστωθεί ότι αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων και έχει αντιαγγειογενετική δράση. Η πρωτεΐνη ενδογλίνη έχει διαπιστωθεί ότι εκφράζεται στο αγγειακό πλέγμα των όγκων αλλά όχι σε εκείνο του περιβάλλοντος φυσιολογικού ιστού και αντισώματα εναντίον της ενδογλίνης μειώνουν την ανάπτυξη των όγκων σε πειραματόζωα με μεγάλης διάρκειας αναστολή της ανάπτυξης των όγκων.

Η ενδοστατίνη έχει αντιαγγειογενετική δράση παρόμοια με εκείνη της αγγειοστατίνης. Παρουσιάζει χημική συγγένεια για την ηπαρίνη και η σύνδεση της με ηπαρινικές θειικές πρωτεογλυκάνες που σχετίζονται με τη δράση αυξητικών παραγόντων πιθανώς ευθύνονται για τη δράση της. Επιπλέον έχει παρατηρηθεί σε in

in vitro μελέτες ότι συνδέεται με την τροπομοσίση των ενδοθηλιακών κυττάρων γεγονός που κατέχει κεντρική σημασία για τη δράση της. Ένα πεπτιδίο που μιμείται τον επίτοπο της τροπομοσίσης και συνδέεται με την ενδοστατίνη έχει παρατηρηθεί ότι αναστέλλει τη δράση της. Επιπλέον έχει παρατηρηθεί ότι η διαταραχή της ακεραιότητας των μικρονηματίων κατέχει κεντρική σημασία στη δραστηριότητα της ενδοστατίνης ενώ η σύνδεση της αγγειοστατίνης με την ATP-συνθάση της επιφάνειας των ενδοθηλιακών κυττάρων έχει σαν αποτέλεσμα την επαγωγή της απόπτωσής τους. Η κομπρεταστατίνη A4 επίσης προάγει την απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων, ενώ στην ίδια κατηγορία αντιαγγειογενετικών φαρμάκων υπάγεται και η 2-μεθοξυεστραδιόλη. (71)

5.4. Διάφορα

Υπάρχει άλλη κατηγορία φαρμάκων που αναστέλλουν την αγγειογένεση με μηχανισμούς που δεν είναι επαρκώς κατανοητοί. Για παράδειγμα, το CAI (carboxyamido-triazole) που ασκεί την δράση του αναστέλλοντας την είσοδο των ιόντων Ca εντός των κυττάρων. Η αναστολή της πρόσληψης Ca με τη σειρά της καταστέλλει την ανάπτυξη των ενδοθηλιακών κυττάρων και επηρεάζει πολλές κυτταρικές διεργασίες. Αναστέλλοντας τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών και καρκινικών κυττάρων το CAI σταθεροποιεί τη νόσο ή σε κάποιες περιπτώσεις μειώνει το μέγεθος του όγκου. Ουσίες με παρόμοια δράση είναι η IL-12 μέσω καταστολής της IFN- γ και IP-10 (interferon-inducible protein-10), καθώς και το IM862 με άγνωστο μηχανισμό.

Η IL-12 είναι γνωστή για το ρόλο της στη ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος και για τη δράση της ενάντια στην ανάπτυξη των όγκων και τις μεταστάσεις. Πρόσφατες μελέτες επισημαίνουν ότι η δράση της IL-12 στα καρκινικά κύτταρα σχετίζεται με αντιαγγειογενετικές διαδικασίες. Η IL-12 δεν έχει άμεση επίδραση στον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση του ενδοθηλιακού κυττάρου αλλά δρα με

έμμεσο τρόπο. Απελευθερώνεται τοπικά και προκαλεί έκκριση IFN- γ από το ενδοθήλιο που με τη σειρά της προκαλεί απελευθέρωση μιας άλλης αντιαγγειογενετικής κυτταροκίνης, της IP-10, που αναστέλλουν τη χημειοταξία και τη διαφοροποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων. Χωρίς την επίδραση της IL-12 η IFN- γ δεν είναι ικανή να αναστέλλει την αγγειογένεση.

Με την επίδραση της IL-12 έχει παρατηρηθεί, μείωση των επιπέδων του VEGF και των MMPs, αύξηση των ιστικών αναστολέων των MMPs και μείωση των επιπέδων του VEGF-RNA και b-FGF-RNA στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Τα έως τώρα αποτελέσματα δείχνουν ότι η IL-12 δρα ως αναστολέας σε διάφορα στάδια της αγγειογένεσης, όμως σε κλινικές δοκιμές που χρησιμοποιήθηκε συστηματικά και τοπικά παρατηρήθηκαν σημαντικές παρενέργειες. (79)

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις εντεροπάθειες (ΙΦΕΝ) χαρακτηρίζονται από μια συνεχή διαδικασία αποδόμησης και ανακατασκευής της δομής των ιστών του εντέρου, που έχει ως συνέπεια τη δημιουργία περιοχών χρόνιας φλεγμονής στον εντερικό σωλήνα. Στη χρόνια φλεγμονή του βλεννογόνου παρατηρείται έντονη διήθηση από φλεγμονώδη κύτταρα, πολλαπλασιασμός και μετανάστευση ενδοθηλιακών κυττάρων, έντονη ανάπλαση του υποεπιθηλιακού συνδετικού ιστού και αυξημένη ανακατασκευή των συστατικών της εξωκυττάριας ουσίας. Διαταραχή της ισορροπίας ανάμεσα στη σύνθεση και καταστροφή των συστατικών της εξωκυττάριας ουσίας οδηγεί είτε σε προοδευτική καταστροφή ιστού και δημιουργία έλκους είτε σε υπερβολική εναπόθεση κολλαγόνου και ίνωση.

1.1. TIMPs

Η δράση των μεταλλοπρωτεϊνολυτικών της εξωκυττάριας ουσίας (MMPs) ρυθμίζεται από ενδογενείς αναστολείς, όπως η α 2-μακροσφαιρίνη και οι ιστικοί αναστολείς των μεταλλοπρωτεϊνολυτικών (TIMPs). (80)

Οι TIMPs είναι πρωτεΐνες μοριακού βάρους 21-34 kDa, που συνδέονται με τις πρόδρομες μορφές των MMPs και αναστέλλουν τη δράση τους. (80) Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί 4 είδη TIMPs (TIMP-1, -2, -3, -4). Οι TIMP-1, TIMP-2, και TIMP-4 βρίσκονται σε διαλυτή μορφή, ενώ ο TIMP-3 βρίσκεται στενά συνδεδεμένος με το στρώμα. Η παραγωγή του TIMP-2 είναι συστασιακή και εκφράζεται ευρέως σε όλο το σώμα, ενώ η παραγωγή των TIMP-1, -3, -4 είναι επαγωγίμη και συχνά χαρακτηρίζεται από ιστική ειδικότητα. Ο TIMP-1 εντοπίζεται κυρίως στο αναπαραγωγικό σύστημα, ο TIMP-3 στην καρδιά, στα νεφρά και στο θύμο, ο TIMP-4 στον εγκέφαλο, στην καρδιά, στις ωοθήκες και στους σκελετικούς μυς. (81)

Αν και τα τέσσερα είδη TIMPs συνδέονται στενά με τις περισσότερες MMPs, ωστόσο έχουν αναφερθεί κάποιες διαφορές στις ανασταλτικές τους ιδιότητες. Οι TIMP-2 και -3, σε αντίθεση με τον TIMP-1, είναι αποτελεσματικοί αναστολείς του μεμβρανικού τύπου μεταλλοπρωτεϊνών (MT-MMPs). Ο TIMP-3, αλλά όχι οι TIMP-1, -2 και -4, είναι ικανός αναστολέας του μετατρεπτικού ενζύμου του TNF- α . Ο TIMP-2 συνδέεται με την προ-MMP-2, ενώ ο TIMP-1 σχηματίζει ειδικό σύμπλεγμα με την προ-MMP-9. Ο TIMP-4 επίσης συνδέεται με την προ-MMP-2. Ο TIMP-3 είναι δύσκολο να αποσπασθεί από τους ιστούς και μοιάζει να συνδέεται στενά με συστατικά του στρώματος, γεγονός που περιορίζει πιθανώς τη δράση του σε περιοχές κοντά στη θέση παραγωγής του. Αυτές οι διαφορές σύνδεσης αντανakλούν το διαφορετικό τρόπο δράσης και τους διαφορετικούς βιολογικούς ρόλους των TIMPs. (80)

Μελέτες έχουν δείξει ότι οι TIMPs είναι πολυδύναμες πρωτεΐνες που η δράση τους δεν περιορίζεται μόνο στην αναστολή των MMPs, αλλά επεκτείνεται και σε άλλες βιολογικές δραστηριότητες με μηχανισμούς όχι πλήρως κατανοητούς. Η ιστική έκφραση των TIMPs κατά κύριο λόγο ρυθμίζει την ισορροπία στο μεταβολισμό της εξωκυττάριας ουσίας, τόσο σε φυσιολογικές συνθήκες όσο και κατά τη διάρκεια της ιστικής καταστροφής και ανάπτυξης. Διαταραχή αυτής της ισορροπίας είναι δυνατόν να οδηγήσει σε πλήθος παθογενετικών διαδικασιών και σε νόσους σχετικές με διαταραχές στο στρώμα, όπως αρθρίτιδα, καρκίνος, καρδιαγγειακές νόσοι, νεφρίτιδα, νευρολογικές διαταραχές, ιστική εξέλκωση και ίνωση. (80,81) Ωστόσο, πέρα από την ικανότητά τους να αναστέλλουν τις MMPs, οι TIMPs φαίνεται να διαθέτουν και ποικίλες άλλες βιολογικές δράσεις, όπως: ενίσχυση της κυτταρικής επιβίωσης (TIMP-1, -2, -3), αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης (TIMP-2, -3, -4), αντιαποπρωτική δράση (TIMP-2, -3), ενίσχυση της στεροειδογένεσης (TIMP-1), αναστολή της αγγειογένεσης (TIMP-1, -2, -3), εμβρυογενετική δράση (TIMP-1, -3). (82)

Μελέτες έχουν δείξει ότι οι TIMPs αναστέλλουν την κυτταρική εισβολή, την ογκογένεση, τη μετάσταση και την αγγειογένεση πιθανώς με απευθείας δράση επάνω

στα κύτταρα και όχι μόνο μέσω αναστολής της δράσης των MMPs. Ο TIMP-1 φάνηκε να προάγει την ενεργοποίηση ανθρώπινων κερατινοκυττάρων, αλλά και άλλων ειδών κυτταρικών σειρών. Ο TIMP-2 φάνηκε να προάγει την ενεργοποίηση ερυθροκυττάρων και να έχει μιτωγόνο δράση σε έναν αριθμό κυτταρικών σειρών. Σε πρόσφατες μελέτες ο TIMP-1 βρέθηκε στον πυρήνα. Υπερέκφραση των TIMP-1, -2 και -3 περιορίζει την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων. Ο TIMP-2 αναστέλλει την ανάπτυξη ανθρώπινων ενδοθηλιακών κυττάρων επαγόμενων από τον b-FGF. Και όλες αυτές οι βιολογικές δράσεις των TIMPs είναι ανεξάρτητες από την ανασταλτική τους δράση στις MMPs.

(80)

Ο TIMP-4, το νεότερο μέλος της οικογένειας των TIMPs, ταυτοποιήθηκε το 1996 και σε αντίθεση με τα άλλα μέλη της οικογένειας είτε απουσιάζει είτε βρίσκεται σε πολύ χαμηλά επίπεδα στους περισσότερους ιστούς, με υψηλότερα ανιχνεύσιμα επίπεδα στην καρδιά. Δομικά μοιάζει με τον TIMP-2 και κατά τη σύνδεση του με τις διάφορες MMPs παρουσιάζει διαφορές στη συγγένεια. Μέχρι σήμερα, η πλειονότητα των μελετών σχετικά με τον TIMP-4 εστιάζεται στον ρόλο του στην καρδιακή παθολογία, με βάση την παρατήρηση ότι ο TIMP-4 εκφράζεται σε σχετικά υψηλά επίπεδα στο φυσιολογικό καρδιακό ιστό και ότι τα επίπεδα αυτά μειώνονται μετά από καρδιακή ανεπάρκεια. Ίσως αυτή η ειδική ιστική έκφραση του TIMP-4 εξηγεί γιατί οι μυοκαρδιακοί όγκοι είναι τόσο σπάνιοι. Σε *in vitro* μελέτη ο TIMP-4 φάνηκε να ενισχύει την απόπτωση των μεταλλαγμένων καρδιακών ινοβλαστών, ενώ δεν επηρέασε την ανάπτυξη των φυσιολογικών ινοβλαστών. Επιπλέον, ο TIMP-4 φάνηκε να αναστέλλει τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων. Λίγες είναι οι γνώσεις σχετικά με τον πιθανό ρόλο του στην αγγειογένεση και την ανάπτυξη του όγκου. *In vitro* μειώνει την εισβολή και μετανάστευση των καρκινικών κυτταρικών σειρών, ωστόσο δεν οδηγεί σε μείωση του σχηματισμού των μεταστάσεων. Σήμερα γνωρίζουμε ότι μόνο ο TIMP-2 αναστέλλει άμεσα την αγγειογένεση. Ο TIMP-4 δε φάνηκε ικανός να αναστέλλει άμεσα την αγγειογένεση αν και, όπως και οι άλλοι TIMPs, είναι ένας αναστολέας της

μετανάστευσης των ενδοθηλιακών κυττάρων των τριχοειδών. Επιπλέον, μελέτη έδειξε ότι ο TIMP-4 καταστέλλει τη μετανάστευση των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων και επάγει την κυτταρική απόπτωση. (83)

Προηγούμενες μελέτες απέδειξαν αυξημένη παραγωγή του TIMP-1 σε ασθενείς με ΙΦΕΝ στον βλεννογόνο και το πλάσμα του αίματος. (84-87) Επίσης αποδείχτηκε ότι τα επίπεδα πλάσματος του TIMP-1 συσχετίζονται θετικά με την ένταση της φλεγμονής του βλεννογόνου, το δείκτη δραστηριότητας της νόσου και τη συγκέντρωση της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) σε ασθενείς με ελκώδη κολίτιδα (ΕΚ). (87) Αντίθετα, τα επίπεδα του TIMP-2 παραμένουν αμετάβλητα σε προηγούμενες μελέτες. (85,86) Δεν έχουν πραγματοποιηθεί έως σήμερα μελέτες όσον αφορά τον TIMP-4 σε ασθενείς με ΙΦΕΝ. Επίσης τα επίπεδα ορού των TIMPs συνολικά, στους ίδιους ασθενείς είναι άγνωστα.

1.2. PDGFs

Οι PDGFs είναι γλυκοπρωτεΐνες που ανιχνεύονται στον ορό αλλά όχι στο πλάσμα του αίματος. Παράγονται από τα αιμοπετάλια, τα μακροφάγα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα κύτταρα των λείων μυϊκών ινών και τα κακοήθη κύτταρα. Αποτελούν ένα από τα κυριότερα μιτωγόνα στον ανθρώπινο ορό του αίματος και ασκούν δράση κυρίως σε κύτταρα μεσεγχυματικής προέλευσης, όπως ινοβλάστες. Ταυτοποιήθηκαν επίσης ως τα μέγιστα μιτωγόνα που απελευθερώνονται από τα α-κοκκία των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων. (88) Παράγονται ως διμερή και συντίθενται από τέσσερεις διαφορετικές πολυπεπτιδικές αλυσίδες, τις PDGF-A και PDGF-B και πιο πρόσφατα PDGF-C και PDGF-D. Οι αλυσίδες αυτές συνδυάζονται ανά δύο σε πέντε διαφορετικές διμερείς ισομορφές PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB, PDGF-CC και PDGF-DD. (89) Τα τρία πρώτα ισομερή είναι τα πιο γνωστά και καλύτερα μελετημένα. Αν και ισχύουν για αυτά οι γενικές ιδιότητες των αυξητικών παραγόντων σχετικά με τη

σύνθεση και έκκριση πρωτεϊνών και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και μετανάστευση, ωστόσο μελέτες έδειξαν ότι τα τρία αυτά ισομερή έχουν διαφορετική ιστική έκφραση και διαφορετική βιολογική δραστηριότητα.

Η ιστική έκφραση των ισομορφών των PDGFs ποικίλλει. Υψηλή έκφραση του mRNA του PDGF-A παρατηρείται στους περισσότερους ιστούς με μέγιστη έκφραση στην καρδιά, στο πάγκρεας και τους σκελετικούς μυς. Ο PDGF-B εκφράζεται στα περισσότερα όργανα με μέγιστα ποσά στην καρδιά και τον πλακούντα. Ο PDGF-C εκφράζεται στους περισσότερους ιστούς των ενηλίκων, με μέγιστα ποσά στην καρδιά, στους νεφρούς, στο πάγκρεας και χαμηλότερα σε ήπαρ και ωθήκες, άφθονη έκφραση βρέθηκε στα επινεφρίδια και καθόλου έκφραση στο σπλήνα στο έντερο και τα περιφερικά λευκά αιμοσφαίρια. Ο PDGF-D εκφράζεται στους περισσότερους ιστούς και κυρίως σε καρδιά, πάγκρεας και ωθήκες, ενώ είναι μη ανιχνεύσιμος σε εγκέφαλο, πνεύμονες και σκελετικούς μυς. (90)

Οι PDGFs συντίθενται στο ενδοπλασματικό δίκτυο ως πρόδρομες ανενεργείς μορφές και μια πρωτεολυτική διαδικασία είναι απαραίτητη για την ενεργοποίηση και τη βιολογική τους δράση. Οι κλασσικοί PDGFs ενεργοποιούνται κατά την εξωκύττωση, ενώ οι νέοι PDGFs ενεργοποιούνται εξωκυτταρικά. Όλοι οι PDGFs διαθέτουν στη δομή τους N- και C- τελικές πολυπεπτιδικές αλυσίδες που σχετίζονται με τη ρύθμιση της βιολογικής τους δράσης και της ικανότητας τους να αλληλεπιδρούν με εξωκυττάρια πρωτεΐνες, γλυκοπρωτεΐνες και μόρια της εξωκυττάριας ουσίας. (91)

Οι PDGFs με τους υποδοχείς τους PDGFR α και PDGFR β είναι ένα από τα πιο καλά μελετημένα συστήματα αυξητικού παράγοντα - υποδοχέα. Και οι δύο είναι μέλη της οικογένειας των υποδοχέων τυροσινικής κινάσης και εκφράζονται ανεξάρτητα ο ένας από τον άλλο σε πλήθος κυττάρων διάφορης προέλευσης. Ινοβλάστες, λεία μυϊκά κύτταρα και τροφοβλάστες του πλακούντα έχουν και τους δύο α και β υποδοχείς. Ολιγοδενδροκύτταρα, μεσοθηλιακά και ενδοθηλιακά κύτταρα των ηπατικών τριχοειδών φάνηκε να έχουν μόνο α υποδοχείς, ενώ ενδοθηλιακά κύτταρα των τριχοειδών του

εγκεφάλου, νευρώνες, μηνιγγικά και Schwann κύτταρα εκφράζουν μόνο β υποδοχείς. Σε πειραματική μελέτη παρατηρήθηκε ότι ο υποδοχέας α είναι κυρίως υπεύθυνος για τη διαφοροποίηση των κυττάρων, ενώ ο υποδοχέας β έχει περισσότερο ρόλο στην αγγειογένεση. (92) Οι πέντε ισομορφές των PDGFs έχουν διαφορετική ικανότητα να συνδέονται και να ενεργοποιούν τους δύο υποδοχείς τους PDGFRs. Τα τέσσερα διμερή ισομερή PDGF-AA, AB, BB, και CC συνδέονται και ενεργοποιούν τον PDGFRα, ενώ τα PDGF-BB και PDGF-DD συνδέονται ειδικά και ενεργοποιούν τον PDGFRβ. Τα PDGF-AB, BB και CC μπορούν επίσης να ενεργοποιήσουν ετεροδιμερή PDGFα/β συμπλέγματα. (93)

Οι PDGFs γενικά είναι δυνητικά μιτωγόνα για ινοβλάστες, οστεοβλάστες, αρτηριακά λεία μυϊκά κύτταρα και γλοιακά κύτταρα, έχουν χημειοτακτική δράση για ινοβλάστες και αρτηριακά λεία μυϊκά κύτταρα, ενισχύουν την πρωτεϊνοσύνθεση και τη μεταφορά αμινοξέων και ενισχύουν τον αριθμό των υποδοχέων της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (LDL). (94) Έχουν μέγιστο φυσιολογικό ρόλο στην διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης και της ιστικής επούλωσης. Κατέχουν σημαίνοντα ρόλο στην εμβρυϊκή ανάπτυξη, στην κυτταρική διαφοροποίηση και στην αποκατάσταση ιστικής βλάβης, όπως φάνηκε από μελέτες σε κυτταροκαλλιέργειες και πειραματόζωα. Συνήθως η παραγωγή τους επάγεται από φαινόμενα όπως ιστική βλάβη, φλεγμονή και έκθεση σε διαλυτούς μιτωγόνους παράγοντες. Έλεγχος της έκφρασης των PDGFs γίνεται σε διάφορα επίπεδα. Είναι από τους πρώτους παράγοντες που απελευθερώνονται στην περιοχή της βλάβης και επομένως σημαντικοί στην έναρξη της αποκατάστασής της. (95)

Η υπερπαραγωγή PDGFs διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη πνευμονικής ίνωσης, μυελοϊνωσης, ηπατικής ίνωσης, καρδιακής ίνωσης, νεφρικής ίνωσης, σκληροδέρματος, αρτηριοσκληρόνωσης και στην παθογένεια συγκεκριμένων κακοήθων όγκων. Ως προς την εντερική ίνωση, οι PDGFs φαίνεται να ενεργοποιούν

τους εντερικούς υποεπιθηλιακούς μυοϊνοβλάστες σε πολλαπλασιασμό, χημειοταξία και υπερπαραγωγή κολλαγόνου. (96)

Οι PDGFs είναι ευρέως αναγνωρισμένοι ως μεσολαβητές της φλεγμονής και εκφράζονται στον ανθρώπινο εντερικό βλεννογόνο. Σύμφωνα με μελέτες, οι PDGFs και οι υποδοχείς τους εκφράζονται σε περιοχές τόσο ενεργού φλεγμονής όσο και ενεργού ίνωσης στις ΙΦΕΝ, από τριχοειδικά ενδοθηλιακά κύτταρα ή περικύτταρα και από ινοβλάστες αντίστοιχα, συμμετέχοντας στις διαδικασίες της νεοαγγείωσης, επούλωσης και ουλοποίησης, τόσο στην Ε.Κ. όσο και στην Ν.Σ. (97) Δεν υπάρχουν έως σήμερα βιβλιογραφικά δεδομένα σχετικά με τα επίπεδα ορού των PDGFs στους ασθενείς με ΙΦΕΝ.

2. ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της μελέτης αυτής είναι η ανεύρεση νέων στοιχείων που θα μπορούσαν να βοηθήσουν στην κατανόηση των μηχανισμών ανάπτυξης της φλεγμονής στις ΙΦΕΝ. Για το λόγο αυτό εκτιμήθηκε ο πιθανός ρόλος των TIMPs στην ελκώδη κολίτιδα (ΕΚ) και τη νόσο του Crohn (NC). Ελέγχθηκε επίσης η συσχέτιση των επιπέδων των ανωτέρω παραγόντων στον ορό του αίματος με τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών. Διερευνήθηκαν οι τυχόν διαφορές όσον αφορά την ενεργότητα της νόσου, την παρουσία εξωεντερικών εκδηλώσεων, το φύλο των ασθενών, την λαμβανόμενη φαρμακευτική αγωγή και ακόμα την έκταση ή την εντόπιση και τη συμπεριφορά της νόσου. Επίσης εξετάστηκε το ενδεχόμενο χρησιμοποίησης των επιπέδων των παραγόντων αυτών στον ορό του αίματος ως δείκτη δραστηριότητας της νόσου στους ασθενείς με ΙΦΕΝ.

Σύμφωνα με την βιβλιογραφία δεν έχουν πραγματοποιηθεί έως σήμερα μελέτες όσον αφορά τον TIMP-4 σε ασθενείς με ΙΦΕΝ. Επίσης τα επίπεδα ορού των TIMPs συνολικά, στους ίδιους ασθενείς είναι άγνωστα. Στην παρούσα μελέτη εκτιμήθηκαν τα επίπεδα του ορού των TIMPs -1, -2 και -4 σε ασθενείς με ΙΦΕΝ και μελετήθηκαν πιθανές συσχετίσεις αυτών με γνωστούς φλεγμονώδεις δείκτες και με τα χαρακτηριστικά των ασθενών, σε μια προσπάθεια να κατανοήσουμε περισσότερο τους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς που πιθανώς ενέχονται στη διαδικασία της ανακατασκευής των ιστών στις ΙΦΕΝ.

Δεν υπάρχουν επίσης, έως σήμερα βιβλιογραφικά δεδομένα σχετικά με τα επίπεδα ορού των PDGFs στους ασθενείς με ΙΦΕΝ και πιθανές συσχετίσεις αυτών των επιπέδων με τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών. Δεδομένου ότι οι PDGFs συμμετέχουν στη διαδικασία φλεγμονής και αποκατάστασης της βλάβης, στην παρούσα μελέτη έγινε μια προσπάθεια να εκτιμηθεί ο πιθανός ρόλος των PDGF-AA, PDGF-BB και PDGF-AB στην ελκώδη κολίτιδα και στη νόσο του Crohn. Μετρήθηκαν τα

επίπεδα των ανωτέρω παραγόντων στον ορό του αίματος και διερευνήθηκε τυχόν συσχέτιση αυτών με τα χαρακτηριστικά των ασθενών.

3. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

3.1. Ασθενείς

Στη μελέτη συμμετείχαν εκατόν πέντε ασθενείς με ΙΦΕΝ που παρακολουθούνται στην κλινική και τα εξωτερικά ιατρεία της Πανεπιστημιακής Γαστρεντερολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας. Τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών αυτών παρουσιάζονται στον πίνακα 4. Όλοι οι ασθενείς είχαν διαγνωσμένη ελκώδη κολίτιδα (ΕΚ) ή νόσο Crohn (NC) με βάση κλινικά, ενδοσκοπικά, ακτινολογικά και ιστολογικά ευρήματα. Η ενεργότητα της νόσου στους ασθενείς με NC προσδιορίστηκε με βάση τον δείκτη CDAI (Crohn's Disease Activity Index) (πίνακας 5) και ενεργός θεωρήθηκε η νόσος με CDAI>150. Η ενεργότητα της νόσου στους ασθενείς με ΕΚ προσδιορίστηκε με βάση τον Clinical Colitis Activity Index (CCAI), (πίνακας 6) και ενεργός θεωρήθηκε η νόσος με CCAI > 4, σε βαθμολογική κλίμακα από 0 έως 16. Η εκτίμηση της ενεργότητας της νόσου έγινε στη φάση της συλλογής του ορού. Την ομάδα ελέγχου αποτελούσαν 50 υγιείς εθελοντές αιμοδότες (υγιείς μάρτυρες, ΥΜ), 33 από τους οποίους ήταν άνδρες, με μέση ηλικία 42,6 έτη. Σε όλους τους ασθενείς εκτός των εξετάσεων ρουτίνας μετρήθηκαν τα επίπεδα του αμυλοειδούς Α του ορού (SAA) και η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP). Προφορική συγκατάθεση δόθηκε από όλους τους ασθενείς. Πάσχοντες από μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα, κακοήθειες ή αυτοάνοσα νοσήματα αποκλείστηκαν από τη μελέτη.

3.2. Μέθοδοι

Η συλλογή των δειγμάτων αίματος έγινε σε σωληνάρια χωρίς αντιπηκτικό, τα οποία μετά την πήξη φυγοκεντρήθηκαν για 15 λεπτά (1000 x g) και ο ορός που απομονώθηκε αποθηκεύτηκε στους -25°C μέχρι τη στιγμή της μέτρησης. Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των TIMP-1, TIMP-2, TIMP-4, PDGF-AA, PDGF-BB και PDGF-AB χρησιμοποιήθηκε εμπορικά διαθέσιμη ανοσοενζυμική μέθοδος ELISA (BIOSNA). Η ελάχιστη ανιχνεύσιμη ποσότητα των TIMP-1, TIMP-2 και TIMP-4 με την παραπάνω μέθοδο είναι 0.08ng/mL, 0.011 ng/mL και 4.91 pg/mL αντίστοιχα, ενώ η ελάχιστη ανιχνεύσιμη ποσότητα των PDGF-AA, PDGF-BB και PDGF-AB είναι 0.74, 0.8 και 0.9 pg/mL αντίστοιχα. Σε όλα τα δείγματα πραγματοποιήθηκε διπλή μέτρηση.

3.3. Στατιστική ανάλυση

Όλα τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως μέση τιμή + SEM. Συγκρίσεις ανάμεσα σε δύο ομάδες ασθενών πραγματοποιήθηκαν με Non Parametric Wilcoxon Signed Ranks test. Για τις εκτιμήσεις των συσχετίσεων χρησιμοποιήθηκαν η linear regression analysis και το Spearman r-test. Όλες οι αναλύσεις έγιναν με βάση το υπολογιστικό πρόγραμμα SPSS 10.0 των Windows. Επίπεδο $p < 0.05$ θεωρήθηκε στατιστικά σημαντικό

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1. Επίπεδα ορού των TIMPs

Η μέση τιμή (\pm SEM) των επιπέδων του ορού του TIMP-1 στους ασθενείς με ΕΚ ήταν 414.9 ± 17.6 ng/mL (ενδιάμεση τιμή: 385.8 ng/mL, εύρος: 70.3-749.9 ng/mL), στους ασθενείς με ΝC ήταν 446.1 ± 22.8 ng/mL (ενδιάμεση τιμή: 414.4 ng/mL, εύρος: 9.0-782.1 ng/mL) και στους ΥM ήταν 296.5 ± 20.6 ng/mL (ενδιάμεση τιμή: 308.8 ng/mL, εύρος: 63.1-552.0 ng/mL). Οι ασθενείς είχαν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερα επίπεδα ορού TIMP-1 συγκρινόμενοι με τους ΥM ($p < 0.0001$ και στις δύο ομάδες). Δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στους πάσχοντες με ΕΚ και ΝC. Η μέση τιμή των επιπέδων του ορού του TIMP-1 ήταν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερη στους πάσχοντες με ενεργό ΙΦΕΝ (450.5 ng/mL) σε σχέση με τους πάσχοντες με ανενεργό νόσο (417.3 ng/mL, $p = 0.03$). Επιπλέον, η μέση τιμή των επιπέδων του TIMP-1 ήταν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερη στους άνδρες με ΙΦΕΝ (448.9 ng/mL), σε σχέση με τις γυναίκες (441.6 ng/mL, $p = 0.01$). Όταν στη στατιστική ανάλυση συμπεριλήφθηκαν και οι ΥM, η μέση τιμή των επιπέδων του TIMP-1 στους άνδρες ήταν υψηλότερη (399.8 ng/mL) σε σχέση με τις γυναίκες (368.5 ng/mL, $p = 0.04$).

Η μέση τιμή (\pm SEM) των επιπέδων του TIMP-2 στους ασθενείς με ΕΚ ήταν 62.3 ± 2.3 ng/mL (ενδιάμεση τιμή: 60.4 ng/mL, εύρος: 33.5-112.0 ng/mL), στους ασθενείς με ΝC 61.9 ± 2.4 ng/mL (ενδιάμεση τιμή: 60.9 ng/mL, εύρος: 0.6-106.0 ng/mL) και στους υγιείς μάρτυρες 61.8 ± 4.5 ng/mL (ενδιάμεση τιμή: 57.7 ng/mL, εύρος: 2.0-187.7 ng/mL). Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ πασχόντων με ΙΦΕΝ και υγιών μαρτύρων ούτε μεταξύ πασχόντων με ενεργό και ανενεργό νόσο ($p > 0.05$ σε όλες τις περιπτώσεις).

Η μέση τιμή (\pm SEM) των επιπέδων του TIMP-4 στους ασθενείς με ΕΚ ήταν 1761.2 ± 67.7 pg/mL (ενδιάμεση τιμή: 1658.1 pg/mL, εύρος: 1089.3-2957.8 pg/mL), στους ασθενείς με ΝC 1708.1 ± 73.4 pg/mL (ενδιάμεση τιμή: 1655.1 pg/mL, εύρος: 965.1-3605.9 pg/mL) και στους υγιείς μάρτυρες 5573.4 ± 1246.3 pg/mL (ενδιάμεση τιμή: 1364.4 pg/mL, εύρος: 336.4-41.752.1 pg/mL). Οι ασθενείς με ΕΚ και ΝC είχαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα ορού TIMP-4 σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες ($p=0.008$ and $p=0.02$ αντίστοιχα). Δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των πασχόντων με ΕΚ και ΝC, ούτε και μεταξύ των πασχόντων με ενεργό και ανενεργό νόσο. Η μέση τιμή των επιπέδων στους άνδρες με ΙΦΕΝ ήταν ελαφρώς χαμηλότερη (1650.7 pg/mL) σε σχέση με τις γυναίκες (1797.2 pg/mL), αλλά η διαφορά δεν ήταν στατιστικώς σημαντική. Ωστόσο, όταν στη στατιστική ανάλυση προστέθηκε η ομάδα των ΥΜ, οι άνδρες είχαν στατιστικώς σημαντικά χαμηλότερη μέση τιμή των επιπέδων του TIMP-4, (2772.9 pg/mL) σε σχέση με τις γυναίκες (3299.0 pg/mL, $p=0.01$).

Στη στατιστική μελέτη δεν προέκυψαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στα επίπεδα των TIMP-1, TIMP-2 και TIMP-4, μεταξύ καπνιστών και μη καπνιστών και σε πάσχοντες με ή χωρίς εξωεντερικές εκδηλώσεις ($p>0.05$ σε όλες τις περιπτώσεις). Η θεραπεία με μόνο 5-ASA ή με επιπλέον κορτικοστεροειδή, infliximab ή ανοσοκατασταλτικά φάρμακα, δε φαίνεται ότι επηρεάζει τα επίπεδα των TIMPs στον ορό. Επιπλέον, τα επίπεδα των TIMPs δε διαφέρουν σημαντικά στις υποομάδες ασθενών ανάλογα με την εντόπιση και τη συμπεριφορά της νόσου στην ΕΚ ή την έκταση της νόσου στη ΝC.

4.2. Επίπεδα ορού των PDGFs

Η μέση τιμή (\pm SEM) των επιπέδων του ορού του PDGF-AA στους ασθενείς με ΙΦΕΝ ήταν 5827.1 ± 398.4 pg/mL (ενδιάμεση τιμή: 4151.1 pg/mL, εύρος: 1025.5 -

17656.2 pg/mL) και στους YM ήταν 4012.7 ± 433.8 pg/mL (ενδιάμεση τιμή: 3420.9 pg/mL, εύρος: 99.8 – 9632.0 pg/mL) και η διαφορά ήταν στατιστικά λίαν σημαντική ($p < 0.0001$). Η μέση τιμή (\pm SEM) των επιπέδων του ορού του PDGF-AA στους ασθενείς με EK ήταν 5661.0 ± 526.8 pg/mL (ενδιάμεση τιμή: 4478.3 pg/mL, εύρος: 1025.5 - 17656.2 pg/mL), στους ασθενείς με NC ήταν 6007.2 ± 607.6 pg/mL (ενδιάμεση τιμή: 4001.5 pg/mL, εύρος: 1061.0 – 14883.1 pg/mL). Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα ορού PDGF-AA μεταξύ ασθενών με EK ή NC, ($p > 0.05$), αλλά παρατηρήθηκαν στατιστικά λίαν σημαντικές διαφορές μεταξύ ασθενών με EK και YM, $p = 0.009$, όπως και μεταξύ NC και YM, $p = 0.006$. Η μέση τιμή των επιπέδων ορού του PDGF-AA στους ασθενείς με ανενεργό νόσο ήταν 5715.0 ± 432.3 pg/mL (ενδιάμεση τιμή: 4261.0 pg/mL, εύρος: 1061.0 – 14883.1 pg/mL), ενώ σε εκείνους με ενεργό 6093.7 ± 879.8 pg/mL (ενδιάμεση τιμή: 3998.5 pg/mL, εύρος: 1025.5 – 17656.2 pg/mL), και η διαφορά μεταξύ ασθενών με ενεργό νόσο και YM ήταν στατιστικά λίαν σημαντική ($p < 0.0001$).

Η μέση τιμή (\pm SEM) των επιπέδων του ορού του PDGF-BB στους ασθενείς με ΙΦΕΝ ήταν 3252.4 ± 248.7 pg/mL (ενδιάμεση τιμή: 2398.8 pg/mL, εύρος: 436.8 – 15579.2 pg/mL) και στους YM ήταν 2600.0 ± 333.6 pg/mL (ενδιάμεση τιμή: 2184.2 pg/mL, εύρος: 96.3 – 7753.2 pg/mL) αλλά η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($p = 0.2$). Η μέση τιμή (\pm SEM) των επιπέδων του ορού του PDGF-BB στους ασθενείς με EK ήταν 3187.0 ± 363.3 pg/mL (ενδιάμεση τιμή: 2390.7 pg/mL, εύρος: 497.7 – 15579.2 pg/mL), στους ασθενείς με NC ήταν 3321.9 ± 341.4 pg/mL (ενδιάμεση τιμή: 2524.8 pg/mL, εύρος: 436.8 – 10139.5 pg/mL). Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα ορού PDGF-BB μεταξύ ασθενών με EK ή NC και YM, ούτε συνολικά στους ασθενείς με ΙΦΕΝ και YM, ($p > 0.05$ σε όλες τις περιπτώσεις). Η μέση τιμή των επιπέδων ορού του PDGF-BB στους ασθενείς με ανενεργό νόσο ήταν 3019.7 ± 248.0 pg/mL (ενδιάμεση τιμή: 2233.5 pg/mL, εύρος: 436.8 – 10139.5 pg/mL), ενώ σε

εκείνους με ενεργό 3825.7 ± 602.4 pg/mL (ενδιάμεση τιμή: 2604.1 pg/mL, εύρος: 497.7 – 15579.2 pg/mL) και η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική $p < 0.001$.

Η μέση τιμή (\pm SEM) των επιπέδων του ορού του PDGF-AB στους ασθενείς με ΙΦΕΝ ήταν 12543.7 ± 503.1 pg/mL (ενδιάμεση τιμή: 12099.9 pg/mL, εύρος: 2557.2 – 28179.3 pg/mL) και στους YM ήταν 13080.2 ± 1066.0 pg/mL (ενδιάμεση τιμή: 12599.2 pg/mL, εύρος: 1174.7 – 29811.3 pg/mL), αλλά οι διαφορές δεν ήταν στατιστικά σημαντικές ($p > 0.05$ σε όλα). Η μέση τιμή (\pm SEM) των επιπέδων του ορού του PDGF-AB στους ασθενείς με ΕΚ ήταν 11966.9 ± 702.7 pg/mL (ενδιάμεση τιμή: 11134.4 pg/mL, εύρος: 3797.2 – 25771.1 pg/mL), στους ασθενείς με NC ήταν 13169.5 ± 716.9 pg/mL (ενδιάμεση τιμή: 12984.5 pg/mL, εύρος: 2557.2 – 28179.3 pg/mL). Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα ορού PDGF-AB μεταξύ ασθενών με ΕΚ ή NC σε σχέση με YM, ούτε ανάμεσα στους πάσχοντες με ΕΚ και NC. Η μέση τιμή των επιπέδων ορού του PDGF-AB στους ασθενείς με ανενεργό νόσο ήταν 12503.2 ± 579.4 pg/mL (ενδιάμεση τιμή: 12240.8 pg/mL, εύρος: 2557.2 – 28179.3 pg/mL), ενώ σε εκείνους με ενεργό 12639.9 ± 1011.0 pg/mL (ενδιάμεση τιμή: 11073.0 pg/mL, εύρος: 3797.2 – 25771.1 pg/mL), αλλά η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική.

Στη στατιστική μελέτη δεν προέκυψαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στα επίπεδα των PDGF-AA, PDGF-BB και PDGF-AB, μεταξύ ανδρών και γυναικών, καπνιστών και μη καπνιστών και σε πάσχοντες με ή χωρίς εξωεντερικές εκδηλώσεις ($p > 0.05$ σε όλες τις περιπτώσεις). Επιπλέον, τα επίπεδα των PDGFs δε διαφέρουν σημαντικά στις υποομάδες ασθενών ανάλογα με την εντόπιση και τη συμπεριφορά της νόσου στην ΕΚ ή την έκταση της νόσου στη NC. Η θεραπεία με μόνο 5-ASA ή με επιπλέον κορτικοστεροειδή ή ανοσοκατασταλτικά φάρμακα, δε φαίνεται ότι επηρεάζει τα επίπεδα των PDGFs στον ορό, όμως ενδιαφέρον παρουσιάζει η παρατήρηση ότι οι ασθενείς που ήταν σε αγωγή με αντί-TNF είχαν την τάση να παρουσιάζουν αυξημένο PDGF-AA, μέση τιμή (\pm SEM) 5901.1 ± 652.4 pg/mL, έναντι εκείνων χωρίς αντί-TNF

αγωγή 5770.9 ± 515.6 pg/mL, ($p=0.06$) και αυξημένο PDGF-BB, μέση τιμή (\pm SEM) 3734.2 ± 521.4 pg/mL, έναντι εκείνων χωρίς αντί-TNF αγωγή 2997.6 ± 247.4 pg/mL, ($p=0.05$)

Επίπεδα SAA και CRP

Οι ασθενείς με ενεργό νόσο είχαν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερα επίπεδα SAA (μέση τιμή \pm SEM 8.66 ± 3.84 , εύρος: 0.2-84.4) σε σχέση με τους ασθενείς με ανενεργό νόσο (μέση τιμή \pm SEM 6.25 ± 1.70 , εύρος: 0.10-58.80), $p=0.001$. Παρόμοια, οι ασθενείς με ενεργό νόσο είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα CRP (μέση τιμή \pm SEM 2.27 ± 1.2 , εύρος: 0.75-31.15) συγκρινόμενοι με τους ασθενείς με ανενεργό νόσο (μέση τιμή \pm SEM 1.10 ± 0.30 , εύρος: 0.00-19.2), $p=0.002$.

4.4. Μελέτες συσχέτισης

Παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ CRP και των επιπέδων TIMP-1 (Spearman r -test, $r=0.247$, $p=0.01$), TIMP-2 (linear regression, $r=0.210$, $p=0.03$) και TIMP-4 (linear regression, $r=0.217$, $p=0.03$). Επίσης, στατιστικώς σημαντική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ SAA και TIMP-1 (Spearman r -test, $r=0.264$, $p=0.008$), TIMP-2 (linear regression, $r=0.261$, $p=0.009$) και TIMP-4 (Spearman r -test, $r=0.212$, $p=0.03$). Στατιστικώς σημαντική αντίστροφη συσχέτιση παρατηρήθηκε επίσης, μεταξύ των επιπέδων TIMP-1 και TIMP-2 (Spearman r -test, $r=-0.334$, $p=0.001$) και μεταξύ των επιπέδων των TIMP-1 και TIMP-4 (linear regression, $r=-0.221$, $p=0.02$). Δεν παρατηρήθηκε κάποια συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων TIMP-1, TIMP-2 και TIMP-4 και της ηλικίας των πασχόντων ή της διάρκειας της νόσου.

Παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ CRP και των επιπέδων PDGF-AA (Spearman r -test, $r=0.282$, $p=0.005$), των επιπέδων PDGF-BB (Spearman r -

test, $r=0.186$, $p=0.05$) και των επιπέδων PDGF-AB (Spearman r-test, $r=0.233$, $p=0.02$). Επίσης, στατιστικώς σημαντική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ SAA και των επιπέδων PDGF-AA (Spearman r-test, $r=0.256$, $p=0.01$), των επιπέδων PDGF-BB (Spearman r-test, $r=0.236$, $p=0.02$) και των επιπέδων PDGF-AB (Spearman r-test, $r=0.302$, $p=0.002$). Παρατηρήθηκε επίσης στατιστικώς σημαντική αρνητική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων PDGF-AA και των επιπέδων PDGF-BB (Spearman r-test, $r=-0.176$, $p=0.03$), στατιστικώς λίκαν σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων PDGF-AA και των επιπέδων PDGF-AB (Spearman r-test, $r=0.612$, $p<0.0001$), όπως και μεταξύ των επιπέδων PDGF-BB και των επιπέδων PDGF-AB (Spearman r-test, $r=0.345$, $p<0.0001$). Δεν παρατηρήθηκε κάποια συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων PDGF-AA, PDGF-BB και PDGF-AB και της διάρκειας της νόσου. Παρατηρήθηκε όμως ενδιαφέρουσα αρνητική συσχέτιση μεταξύ της ηλικίας των ασθενών και των επιπέδων PDGF-AA (Spearman r-test, $r=-0.168$, $p=0.05$), των επιπέδων PDGF-BB (Spearman r-test, $r=-0.157$, $p=0.03$) και των επιπέδων PDGF-AB (Spearman r-test, $r=-0.165$, $p=0.04$).

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

5.1 TIMPs

Η μελέτη αυτή παρέχει μερικές νέες πληροφορίες σχετικά με την αυξημένη παραγωγή TIMP-1 στους πάσχοντες με ΙΦΕΝ, ειδικά σε ενεργό νόσο, και η αύξηση της συσχετίζεται με την παραγωγή των φλεγμονωδών παραγόντων CRP και SAA. Από την άλλη μεριά διαπιστώνει μειωμένη παραγωγή TIMP-4 στους ασθενείς αυτούς, ανεξάρτητα από την ενεργότητα της νόσου, και συσχέτιση των επιπέδων του TIMP-4 με τους φλεγμονώδεις δείκτες. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η παρατήρηση ότι οι άνδρες της μελέτης είχαν αυξημένα επίπεδα ορού TIMP-1 και ταυτόχρονα μειωμένα επίπεδα TIMP-4 σε σχέση με τις γυναίκες.

Στις ΙΦΕΝ, όπως και σε όλες τις φλεγμονώδεις διεργασίες, οι MMPs και οι TIMPs διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην διαδικασία της αποδόμησης και ανακατασκευής της εξωκυττάριας ουσίας. (98,99) Ήδη έχει περιγραφεί αυξημένη παραγωγή TIMP-1 στις ΙΦΕΝ, τόσο τοπικά στο βλεννογόνο όσο και στο πλάσμα. (84-87) Επίσης, σε προηγούμενη μελέτη παρατηρήθηκε ότι στις ΙΦΕΝ ο TIMP-1 εκφράζεται από φλεγμονώδη κύτταρα, ινοβλάστες και λεία μυϊκά κύτταρα, κυρίως στις περιοχές ενεργού φλεγμονής. (86) Σε μια *ex vivo* μελέτη με καλλιέργειες κυττάρων από βιοψίες εντέρου ασθενών με ΙΦΕΝ φάνηκε αυξημένη παραγωγή TIMP-1 στον βλεννογόνο με φλεγμονή τόσο στην ΕΚ όσο και στην ΝC, ενώ στον φυσιολογικό βλεννογόνο δεν ανιχνεύτηκε αξιοσημείωτη αύξηση TIMP-1. (84) Στην ίδια μελέτη, η αύξηση του TIMP-1 συσχετίσθηκε με τα επίπεδα των κυτταροκινών IL-6, IL-1β και IL-10. Σε άλλη μελέτη, παρατηρήθηκε αυξημένη έκφραση του mRNA του TIMP-1 σε φλεγμονώδη και ιδιαίτερα σε εξελκωμένο βλεννογόνο πασχόντων με ΙΦΕΝ. (85) Αυξημένα επίπεδα TIMP-1 παρατηρήθηκαν επίσης σε περιοχές ίνωσης στην ΝC. (100) Επιπλέον, ο TIMP-1 διαπιστώθηκε ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση των φλεγμονωδών κυττάρων στο έντερο μέσω αναστολής κατά 50% της μετανάστευσης των

ουδετερόφιλων. (101) Σε πρόσφατη μελέτη, τα επίπεδα στο πλάσμα του TIMP-1 σε πάσχοντες με ΕΚ διαπιστώθηκε ότι σχετίζονται με το βαθμό της βλάβης του βλεννογόνου, με το δείκτη ενεργότητας της νόσου και με τη συγκέντρωση της CRP και οι συγγραφείς προτείνουν ότι οι συγκεντρώσεις του TIMP-1 στο πλάσμα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτης δραστηριότητας της νόσου. (87)

Ο TIMP-1 εκκρίνεται από μια ποικιλία κυττάρων και η παραγωγή του επάγεται από εξωτερικά ερεθίσματα όπως από αυξητικούς παράγοντες και κυτταροκίνες (IL-6, IL-1 και IL-1b). (82) Επίσης η ερυθροποιητίνη (EPO) επάγει την έκκριση του. (102) Σε προηγούμενη μελέτη διαπιστώθηκε αυξημένη παραγωγή της ενδογενούς EPO στους πάσχοντες με ΙΦΕΝ. (103) Από τα παραπάνω συνάγεται ότι η EPO και ο TIMP-1 δρουν συνεργικά, παίζοντας σημαντικό ρόλο όχι μόνο στην ωρίμανση και παραγωγή των ερυθρών αιμοσφαιρίων αλλά και σε άλλες παθοφυσιολογικές διαδικασίες στις ΙΦΕΝ.

Παρά την αντίστροφη συσχέτιση των επιπέδων TIMP-2 και TIMP-1 και τη θετική συσχέτιση του TIMP-2 με τους φλεγμονώδεις δείκτες, δεν παρατηρήθηκε διαφορά στα επίπεδα του TIMP-2 μεταξύ πασχόντων και υγιών μαρτύρων. Οποιαδήποτε συμπεράσματα σχετικά με αυτήν τη διαπίστωση απαιτούν ειδική περαιτέρω έρευνα. Σε προηγούμενη μελέτη τα επίπεδα mRNA του TIMP-2, με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) σε βιοψίες από πάσχοντες με ΙΦΕΝ, παρέμειναν σταθερά σε φλεγμονώδη και υγιή βλεννογόνο. (85) Επιπλέον σε ανοσοϊστοχημική μελέτη των Asihiro et al. δεν παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη έκφραση TIMP-2 στο φλεγμονώδη βλεννογόνο ασθενών με ΙΦΕΝ. (86)

Ένα σημαντικό νέο εύρημα της μελέτης είναι ότι τα επίπεδα ορού του TIMP-4 είναι μειωμένα στους πάσχοντες με ΙΦΕΝ ανεξάρτητα από τη δραστηριότητα της νόσου. Προκειμένου να ερμηνεύσουμε αυτό το αποτέλεσμα, θα πρέπει να έχουμε υπόψιν ότι:

1) Η ισορροπία ανάμεσα στις MMPs και τους TIMPs παίζει σημαντικό ρόλο στη φλεγμονώδη διαδικασία

2) Όταν η επαγόμενη από τη φλεγμονή αύξηση των ενεργών MMPs δεν μπορεί να ελεγχθεί από τους TIMPs, η υπερβολική καταστροφή της εξωκυττάριας ουσίας οδηγεί σε αποδιοργάνωση των ιστών. (99,104)

3) Η αυξημένη δραστηριότητα των MMPs θα μπορούσε να ενισχύσει και να διαταράξει την ανοσολογική απάντηση του εντέρου. (104)

Ο TIMP-4, το νεότερο μέλος των TIMPs, είναι ένας ειδικός ιστικός ρυθμιστής της EMC, που συνδέεται με το C-τελικό τμήμα της προ-MMP-2 και αναστέλλει τη διαδικασία ενεργοποίησης της MMP-2. (80) Η ρύθμιση της δράσης της MMP-2 στις ΙΦΕΝ είναι σημαντική εξαιτίας του ρόλου της στην επούλωση, στην αγγειογένεση και επανεπιθηλιοποίηση, όπως επίσης και στη ρύθμιση της λειτουργίας του επιθηλιακού φραγμού στο έντερο. (98,99)

Έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι η έκφραση του TIMP-4 σε σχετικά υψηλά επίπεδα στο φυσιολογικό καρδιακό ιστό εξηγεί το γιατί οι όγκοι του μυοκαρδίου είναι σπάνιοι. (105) Από την άλλη πλευρά, είναι γνωστό ότι τα μειωμένα επίπεδα TIMP-4 έχουν αντι-αποπτωτική δράση. (106) Σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, πιθανώς τα μειωμένα επίπεδα TIMP-4 να συμβάλλουν στην αύξηση των κακοήθων όγκων που παρατηρείται στους πάσχοντες με ΙΦΕΝ. Επιπλέον, ο TIMP-4 αναστέλλει τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων. (107) Η συγκόλληση των αιμοπεταλίων είναι αυξημένη στις ΙΦΕΝ, στην ενεργό και ανενεργό νόσο. (108) Έτσι, τα μειωμένα επίπεδα όρου του TIMP-4 στους πάσχοντες με ΙΦΕΝ ανεξάρτητα από τη δραστηριότητα της νόσου, πιθανώς να προάγουν τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων στις ΙΦΕΝ. Για επιβεβαίωση όμως των υποθέσεων αυτών απαιτούνται περαιτέρω έρευνες. Τα αυξημένα του TIMP-1 και τα μειωμένα του TIMP-4 επίπεδα ορού αντανakλούν την παράδοξη δράση αυτών των αναστολέων, είτε ως επαγωγείς είτε ως αναστολείς, σε πολλές διαφορετικές παθοφυσιολογικές διαδικασίες σχετικές με τη φλεγμονή, την ιστική βλάβη και την επούλωση του βλεννογόνου στις ΙΦΕΝ. Τα ευρήματα αυτά αποκαλύπτουν τις διάφορες βιολογικές δράσεις των TIMPs στις ΙΦΕΝ,

που συμβάλλουν στη χρόνια φλεγμονή, την ιστική καταστροφή και την υπερβολική εναπόθεση κολλαγόνου.

Στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε ότι τα επίπεδα ορού των TIMP-1 και TIMP-4 είναι διαφορετικά στο ανδρικό και γυναικείο φύλο. Η παρατήρηση αυτή αποτελεί αντικείμενο περαιτέρω εξειδικευμένης έρευνας. Ο συσχετισμός του TIMP-1 με τη στεροειδογένεση διαπιστώθηκε πρώτη φορά σε μελέτες στα κύτταρα Leyding και τα ωκύτταρα. Έχει αποδειχθεί ότι ρυθμίζει τις συγκεντρώσεις των στεροειδών και την ανάπτυξη των γεννητικών κυττάρων και στα δύο φύλα. (109) Επιπλέον σε πρόσφατη μελέτη διαπιστώθηκε ότι ο TIMP-1 δεν είναι απαραίτητος για την ανάπτυξη των γεννητικών κυττάρων και η δράση του πιθανώς υποκαθίσταται από έναν άλλο TIMP. (110) Σύμφωνα λοιπόν με τη μελέτη μας ο TIMP-4 θέτει υποψηφιότητα για την εν λόγω δράση. Όμως σε πρόσφατη μελέτη με σχετικά μικρό αριθμό εξεταζόμενων, δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στα επίπεδα του TIMP-1 στο πλάσμα μεταξύ ανδρών και γυναικών. (111) Ωστόσο, απαιτείται επιπλέον έρευνα προκειμένου να εξηγηθούν τα ευρήματά μας, δεδομένου ότι έχουν πραγματοποιηθεί ελάχιστες μελέτες στο συγκεκριμένο θέμα.

5.2 PDGFs

Οι PDGFs είναι ευρέως αναγνωρισμένοι ως μεσολαβητές της φλεγμονής και εκφράζονται στον ανθρώπινο εντερικό βλεννογόνο. Σε πειραματική μελέτη με προκλητά δωδεκαδακτυλικά έλκη σε αρουραίους, οι PDGFs φάνηκε να επιταχύνουν την επούλωση. Εξωγενής χορήγηση PDGFs περιόρισε το μέγεθος του έλκους, ενώ η γαστρική έκκριση οξέος δεν επηρεάστηκε. (112) Σε άλλη μελέτη, διερευνήθηκε ο ρόλος των PDGFs στη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό καλλιεργούμενων γαστρικών επιθηλιακών κυττάρων ποντικών και φάνηκε ότι αυξάνουν σημαντικά τη μετανάστευση των επιθηλιακών κυττάρων με έναν δόσοεξαρτώμενο τρόπο. (113) Ανάλογα, θεραπεία από το στόμα με PDGFs σε αρουραίους με πειραματική γαστρίτιδα, μείωσε τη σοβαρότητα της γαστρίτιδας με δόσοεξαρτώμενο τρόπο. (114) Σ' ένα μοντέλο με

πειραματική κολίτιδα, οι PDGFs φάνηκε να μπλοκάρουν τη διαδικασία της εξέλκωσης και να ενισχύουν την αποκατάσταση του επιθηλίου.

Εξωγενής χορήγηση PDGFs σε αρουραίους με πειραματική κολίτιδα, μείωσε τη σοβαρότητα της φλεγμονής στο κόλον, περιόρισε το μέγεθος των ελκών και ενίσχυσε την επανεπιθηλιοποίηση με δοσοεξαρτώμενο τρόπο. (115) Πιθανώς είναι μερικώς υπεύθυνοι και για την αύξηση των υποεπιθηλιακών μυοϊνοβλαστών στον φλεγμονώδη βλεννογόνο των ασθενών με ΙΦΕΝ, και παίζουν σημαντικό ρόλο στην ιστική αναμόρφωση του εντέρου, ενισχύοντας τον πολλαπλασιασμό των μυοϊνοβλαστών και τη σύνθεση του κολλαγόνου. (116) Σύμφωνα με μελέτες, οι PDGFs και οι υποδοχείς τους εκφράζονται σε περιοχές τόσο ενεργού φλεγμονής όσο και ενεργού ίνωσης στις ΙΦΕΝ, από τριχοειδικά ενδοθηλιακά κύτταρα ή περικύτταρα και από ινοβλάστες αντίστοιχα, συμμετέχοντας στις διαδικασίες της νεοαγγείωσης, επούλωσης και ουλοποίησης, τόσο στην Ε.Κ. όσο και στην Ν.Σ. (97) Ως προς την εντερική ίνωση, οι PDGFs φαίνεται να ενεργοποιούν τους εντερικούς υποεπιθηλιακούς μυοϊνοβλάστες σε πολλαπλασιασμό, χημειοταξία και υπερπαραγωγή κολλαγόνου. (96)

Στην παρούσα μελέτη τα επίπεδα ορού του PDGF-AA των πάσχοντων με ΙΦΕΝ, τόσο με ΕΚ όσο και με ΝΣ, παρουσιάζονται σημαντικά αυξημένα σε σχέση με τα επίπεδα ορού PDGF-AA των υγιών μαρτύρων. Με δεδομένο ότι οι PDGFs αποτελούν μέγιστα μιτωγόνα, είναι από τους πρώτους παράγοντες που απελευθερώνονται σε περιοχές φλεγμονής και ιστικής βλάβης και συμμετέχουν στις διαδικασίες της νεοαγγείωσης επούλωσης και ίνωσης στις ΙΦΕΝ, πιθανώς η αυξημένη παραγωγή PDGF-AA στους πάσχοντες με ΙΦΕΝ να εξυπηρετεί τη διαδικασία επούλωσης και αποκατάστασης της φυσιολογικής αρχιτεκτονικής του πάσχοντος βλεννογόνου του εντέρου. Στην παρούσα μελέτη γίνεται επίσης για πρώτη φορά ο προσδιορισμός των επιπέδων ορού του PDGF-BB σε ασθενείς με ΙΦΕΝ. Η αύξηση του PDGF-BB στον ορό ασθενών με ενεργό νόσο καθώς και η θετική συσχέτιση του με τους γνωστούς δείκτες φλεγμονής CRP και SAA, καθιστούν τα επίπεδα ορού PDGF-BB χρήσιμο δείκτη

δραστηριότητας της νόσου στις ΙΦΕΝ. Ως προς τα επίπεδα ορού του PDGF-AB, δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ υγιών μαρτύρων και πασχόντων, ούτε και μεταξύ πασχόντων με ενεργό και ανενεργό νόσο, ούτε και μεταξύ πασχόντων με ΕΚ και ΝC. Πιθανώς ο PDGF-AB δε συμμετέχει στις ΙΦΕΝ τόσο ενεργά όσο άλλοι PDGFs. Με δεδομένο ότι δεν υπάρχουν προηγούμενες μελέτες για τα επίπεδα ορού των PDGFs στους πάσχοντες με ΙΦΕΝ, οποιαδήποτε συμπεράσματα σχετικά με τις παραπάνω διαπιστώσεις απαιτούν ειδική περαιτέρω έρευνα.

Τα αυξημένα επίπεδα PDGF-AA, -BB, -AB στους ασθενείς με anti-TNF αγωγή αντανakλούν το γεγονός ότι οι ασθενείς αυτοί, ανθεκτικοί σε οποιαδήποτε άλλη φαρμακευτική αγωγή, διαθέτουν μεγαλύτερα ποσά PDGFs στη διαδικασία αποκατάστασης και επανεπιθηλιοποίησης του βλεννογόνου προκειμένου να αντιμετωπίσουν την αυξημένη ένταση της φλεγμονής.

Ένα επιπλέον ενδιαφέρον εύρημα της παρούσας μελέτης είναι η αρνητική συσχέτιση μεταξύ της ηλικίας των ασθενών και των επιπέδων PDGF-AA, PDGF-BB και PDGF-AB. Η παρατήρηση αυτή αποτελεί αντικείμενο περαιτέρω εξειδικευμένης έρευνας. Σε προηγούμενη *in vivo* μελέτη φάνηκε ότι η αφθονία των υποδοχέων των PDGFs καθώς και τα ίδια τα ποσά των PDGFs τοπικά στον εγκέφαλο ποντικών μειώνονται σημαντικά με την ηλικία. (117) Σε άλλη μελέτη φάνηκε επίσης ότι τα ποσά του PDGF τοπικά στο φλεβικό τοίχωμα μειώνονται με την πάροδο της ηλικίας. (118) Πτώση των επιπέδων των PDGFs με την πάροδο της ηλικίας παρατηρείται και τοπικά στο μυοκάρδιο αρουραίων (119) και εξωγενής χορήγηση PDGFs τοπικά περιορίζει την έκταση της μυοκαρδιακής βλάβης σε ηλικιωμένα ποντίκια. (119) Από την άλλη μεριά, όταν μετρήθηκαν τα ποσά των PDGF-AB και PDGF-BB σε πλάσμα αιμοδοτών, δεν παρατηρήθηκαν μεταβολές σε σχέση με την ηλικία. (120) Ωστόσο, απαιτείται επιπλέον έρευνα προκειμένου να εξηγηθούν τα ευρήματά μας, δεδομένου ότι έχουν πραγματοποιηθεί ελάχιστες μελέτες στο συγκεκριμένο θέμα.

6. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συμπερασματικά, οι πληροφορίες μας επιβεβαιώνουν το ρόλο των TIMPs και των PDGFs στην παθογένεια των ΙΦΕΝ. Η αυξημένη παραγωγή τους στις ΙΦΕΝ είναι στενά συνδεδεμένη με την παραγωγή των γνωστών δεικτών φλεγμονής CRP και SAA και τα επίπεδα του ορού του TIMP-1 καθώς και του PDGF-BB μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτης δραστηριότητας της νόσου στις ΙΦΕΝ. Ωστόσο, τα ευρήματα της μελέτης μας γεννούν προβληματισμούς σε πολλά επίπεδα που απαιτούν περαιτέρω έρευνα. Από την άλλη πλευρά, αυτές οι πληροφορίες ίσως αποδειχτούν χρήσιμες στο σχεδιασμό πιο ριζικών θεραπευτικών χειρισμών που θα στοχεύουν στη ρύθμιση του μηχανισμού δράσης των TIMPs και των PDGFs στους ασθενείς με ΙΦΕΝ .

Πίνακας 1. ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΤΕΣ ΤΗΣ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗΣ

1. Αυξητικός παράγοντας του ενδοθηλίου των αγγείων, VEGF (vascular endothelial growth factor)
2. Βασικός και όξινος αυξητικός παράγοντας των ινοβλαστών, b- και a- FGF (basic and acidic fibroblast growth factor)
3. Αυξητικός παράγοντας μετασχηματισμού β και α, TGF-b και -a (transforming growth factor b and a)
4. Μεταλλοπρωτεϊνάσες της μεσοκυττάριας ουσίας, MMPs (matrix metalloproteinases)
5. Αυξητικός παράγοντας των ηπατοκυττάρων, HGF (hepatocyte growth factor)
6. Ιντερλευκίνες, ILs (interleukins)
7. Παράγοντας νέκρωσης των όγκων, TNF (tumor necrosis factor)
8. Αγγειογενίνη (angiogenin)
9. Ερυθροποιητίνη, EPO (erythropoietin)
10. Αγγειοποιητίνη-1, Ang-1 (angiopoietin-1)
11. Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας, EGF (epidermal growth factor)
12. Αυξητικός παράγοντας προερχόμενος από αιμοπετάλια, PDGF (platelet-derived growth factor)
13. Ινσουλινοειδής αυξητικός παράγοντας και αυξητική ορμόνη, IGF και GH (insulin-like growth factor and growth hormone)
14. Παράγοντας 1α επαγόμενος από υποξία, HIF-1a (hypoxia-induced factor 1a)
15. Θυμιδική φωσφορυλάση, TP (thymidine phosphorylase) (pdecgf)
16. Κυκλοοξυγενάση-2, COX-2 (cyclooxygenase-2)
17. Λεπτίνη (Leptin)

Πίνακας 2. ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΗΣ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗΣ

1. Θρομβοσπονδίνη, TSP (thrombospondin)
2. Ενδοστατίνη (endostatin)
3. Αγγειοστατίνη (angiostatin)
4. Ιστικοί αναστολείς των μεταλλοπρωτεϊνολυτικών, TIMPs (tissue inhibitors of metalloproteinases)
5. Αιμοπεταλιακός παράγοντας IV, PF-4 (platelet factor IV)
6. Ιντερφερόνη-α, IFN-α (interferon-α)
7. Αγγειοποιητίνη-2, Ang-2 (angiopoietin-2)
8. Ιντερλευκίνη-12, IL-12 (interleukin-12)
9. Τροπονίνη-I, Tn-I (troponin-I)
10. 2-Μεθοξοιστραδιόλη, 2-ME (2-methoxyestradiol)
11. Ρετινοϊκό οξύ (retinoic acid)
12. Βαζοστατίνη (vasostatin)
13. Προλακτίνη και πλακουντιακό γαλακτογόνο, PRL και PL (prolactin and placental lactogen)
14. Ειδικό προστατικό αντιγόνο, PSA (prostate specific antigen)

Πίνακας 3. ΦΑΡΜΑΚΑ ΠΟΥ ΤΡΟΠΟΠΟΙΟΥΝ ΤΗΝ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗ

Thalidomide	RPI-4610
Angiostatin	Soy isoflavone
Endostatin	Squalamine
Interleukin-12	SU-5416
Marimastat	Suramin
2-Methoxyestradiol	Tamoxifen
BMS-275291	Cobretastatin A4
EMD-121974	INF- α
AE-941 (Neovastat)	Neomycin
Avastin (rhuMab VEGF)	ZD6474
Carboxyamodotriazole	Angiozyme
COL-3	PNU-145156E (FCE26644)
Celecoxib	TNP-470 (AGM-1470)
IM-862	Anti-TNF (Infliximab, Etanercept)

Πίνακας 4. Τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΙΦΕΝ

	EK	NC
Αριθμός ασθενών	53	52
Μέση ηλικία \pm SD (εύρος), σε έτη	49.8 \pm 13.9 (20-79)	36.6 \pm 13.6 (17-69)
Μέση διάρκεια νόσου \pm SD (range), σε μήνες	85.9 \pm 81.8 (1-348)	72.4 \pm 68.6 (1-388)
Ανδρες	30	21
Γυναίκες	23	31
Καπνιστές	5	32
Πρώην καπνιστές	20	2
Μη καπνιστές	28	18
Έκταση νόσου (EK)		
Ορθίτιδα	10	
Αριστερή κολίτιδα	15	
Πανκολίτιδα	28	
Εντόπιση νόσου (NC)		
Ειλεός		17
Παχύ έντερο		4
Λεπτό και παχύ		31
Συμπεριφορά νόσου (NC)		
Φλεγμονώδης		32
Στενωτική		8
Διατρητική		12
Ενεργός νόσος	22	17
Ανενεργός νόσος	31	35

Εξωεντερικές εκδηλώσεις	24	29
Θεραπεία		
5-ASA	51	51
Στεροειδή	28	43
Υποκλυσμοί (5-ASA και/ή στεροειδή)	27	5
Ανοσοκατασταλτικοί παράγοντες	13	21
Μετρονιδαζόλη	11	28
Infliximab	4	15
Παρεντερική διατροφή	2	1

Πίνακας 5. Crohn's Disease Activity Index – CDAI

Ημέρες εβδ	1 2 3 4 5 6 7	Άθροισμα	Σύνολο
1. αριθμός υδαρών ή μη σηματισμένων κενώσεων	<input type="text"/>	<input type="text"/>	X2 = <input type="text"/>
2. Κοιλιακό άλγος	<input type="text"/>	<input type="text"/>	X5 = <input type="text"/>
• 0 = καθόλου			
• 1 = ήπιο			
• 2 = μέτριο			
• 3 = έντονο			
3. Γενική κατάσταση	<input type="text"/>	<input type="text"/>	X5 = <input type="text"/>
• 0 = καλή			
• 1 = ελαφρώς επηρεασμένη			
• 2 = κακή			
• 3 = πολύ κακή			
• 4 = απελπιστική			
4. Επιπλοκές	<input type="text"/>	<input type="text"/>	X7 = <input type="text"/>
• Αρθρίτις / Αρθραλγία			
• Ιρίτις / Επισκληρίτις			
• Οζώδες ερύθημα / Γαγγραινώδες πυόδερμα / Αφθώδης στοματίτις			
• Περιπρωκτική ραγάδα/ συρίγγιο/ απόστημα			
• Άλλο συρίγγιο			
• Πυρετός >37,8 °C την τελευταία εβδομάδα			
Σύνολο επιπλοκών		<input type="text"/>	X20 = <input type="text"/>
5. Λήψη διφαινοξυλάτης (Lomotil, Reasec), λοπεραμίδης (Imodium), ή άλλων οπιούχων κωδεϊνούχων αντιδιαρροϊκών σκευασμάτων			
• 0 = Όχι			
• 1 = Ναι			
			<input type="text"/> X30 = <input type="text"/>
6. Κοιλιακή μάζα			
• 0 = Όχι			
• 1 = Αμφίβολη			
• 2 = Σίγουρη			
			<input type="text"/> X10 = <input type="text"/>
7. Αιματοκρίτης <input type="text"/> % Άνδρες 47-Hct			
Γυναίκες 42-Hct =			
		<input type="text"/>	X6 = <input type="text"/>
8. Σωματικό βάρος <input type="text"/> Kg			
Φυσιολογικό βάρος <input type="text"/> Kg			
$(1 - \frac{\Sigma B}{\Phi \Sigma B}) \times 100 =$		<input type="text"/>	X1 = <input type="text"/>
$\Phi \Sigma B$			
			(Πρόσθεση ή αφαίρεση ανάλογα με την τιμή)
			CDAI = <input type="text"/>

Πίνακας 6. (CCAI) ΚΛΙΝΙΚΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ ΕΛΚΩΔΟΥΣ ΚΟΛΙΤΙΔΑΣ

1. Νο κενώσεων εβδομαδιαίως:	
<18	0
18-35	1
36-60	2
>60	3
2. Αίμα στα κόπρανα (βασισόμενο στον εβδομαδιαίο Μ.Ο.):	
Καθόλου	0
Λίγο	2
Πολύ	4
3. Συνολική εκτίμηση της κατάστασης του ασθενούς:	
Καλή	0
Μέτρια	1
Κακή	2
Πολύ κακή	3
4. Κοιλιακός πόνος/κράμπες:	
Καθόλου	0
Ήπιος	1
Μέτριος	2
Έντονος	3
5. Θερμοκρασία σώματος λόγω κολίτιδας (°C):	
37-38	0
>38	3
6. Εξωεντερικές εκδηλώσεις:	
Ιριδίτις	3
Οζώδες ερύθημα	3
Αρθρίτιδα	3
7. Εργαστηριακά ευρήματα:	
ΤΚΕ >50mm την 1 ^η ώρα	1
ΤΚΕ >100mm την 1 ^η ώρα	2
Αιμοσφαιρίνη <100g/l	4

ΣΥΝΟΛΙΚΟΣ ΔΕΙΚΤΗΣ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ:

Πίνακας 7. ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΒΑΡΥΤΗΤΑΣ ΕΚ (Truelove – Witts)

	Ήπιο	Μέτριο	Βαρύ
Διαρροϊκές κενώσεις/24ωρο	4 ή < 4	4-6	> 6
Αίμα στις κενώσεις	Ελάχιστο	Μέτριο	Άφθονο
Θερμοκρασία	Φυσιολογική	Φυσιολογική	> 37,5 °C
Σφύξεις	Φυσιολογικές	< 90/ min	> 90/ min
Αιμοσφαιρίνη	Φυσιολογική	> 10.5 g/dl	< 10.5 g/dl
ΤΚΕ (1 ^η ώρα)	Φυσιολογική	< 30	> 30

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Hertig A. Angiogenesis in the early human chorion and in the primary placenta of the Macaque monkey. *Contrib Embryol* 1935, 25:37.
2. Folkman J. Tumor angiogenesis. *Adv Cancer Res* 1985, 43:175-203.
3. Ide AG, Baker NH, Warren SL. Vascularization of the Brown-Pearce rabbit epithelioma transplants seen in the transparent ear chamber. *Am J Roentgenol* 1939, 42:891-899.
4. Algire GH, Chalkley HW, Legallis FY et al. Vascular reactions of normal and malignant tissues in vivo. Vascular reactions of mice to wounds and to normal and neoplastic transplant. *J Natl cancer Inst* 1945, 6:73-85.
5. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature* 1997, 386:671-674.
6. Folkman J. Angiogenesis. *Ann Rev Med* 2006, 57:1-18.
7. Eberhard A, Kahlert S, Goede V. Heterogeneity of angiogenesis and blood vessel maturation in human tumors: implications for antiangiogenic tumor therapies. *Cancer Res* 2000, 60:1388-1393.
8. Liu W, Ahmad S, Reinmuth N et al. Endothelial cell survival and apoptosis in the tumor vasculature. *Apoptosis* 2000, 5:323-328.
9. Hanahan D. Signaling vascular morphogenesis and maintenance. *Science* 1997, 277:48-50.
10. Craft PS, Harris AL. Clinical prognostic significance of tumour angiogenesis. *Annals of Oncology* 1994, 5:305-311.
11. Jain RK. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy. *Science* 2005, 307:58-62.
12. Folkman J. Angiogenesis. In *Biology of Endothelial Cells*. Jaffe EA. (ed) 1984 pp 412-428.

13. Hori K, Suzuki M, Tanda S et al. In vitro analysis of tumor vascularization in the rat. *Jpn J of Cancer res* 1990, 81:279-288.
14. Duffy JP, Eibl G, Reber HA et al. Influence of hypoxia and neoangiogenesis on the growth of pancreatic cancer. *Mol Cancer* 2003, 2(1):12.
15. Walsh DA, Pearson CI. Angiogenesis in the pathogenesis of inflammatory joint and lung diseases. *Arthritis Res* 2001, 3:147-153.
16. Liekens S, De Clercq E, Neyts J. Angiogenesis: regulators and clinical applications. *Biochemical Pharmacology* 2001, 61:253-270.
17. Griga T, Gutzeit A, Sommerkamp C et al. Increased production of vascular endothelial growth factor by peripheral blood mononuclear cells in patients with inflammatory bowel disease. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology* 1999, 11:175-179.
18. Bousvaros A, Leichtner A, Zurakowski D et al. Elevated serum vascular endothelial growth factor in children and young adults with Crohn's Disease. *Dig Dis Sci* 1999, 44:424-430.
19. Ito A, Hirota S, Mizuno H et al. Expression of vascular permeability factor (VPF/VEGF) messenger RNA by plasma cells: possible involvement in the development of oedema in chronic inflammation. *Pathol Int* 1995, 45:715-720.
20. Kapsoritakis A, Sfiridaki A, Maltezos E, et al. Vascular endothelial growth factor in inflammatory bowel disease. *Int J Colorectal Dis* 2003, 18:418-422.
21. Griga T, Tromm A, Spranger J et al. Increased serum levels of vascular endothelial growth factor in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1998, 33:504-508.
22. Di Sabatino A, Ciccocioppo R, Armellini E et al. Serum bFGF and VEGF correlate respectively with bowel wall thickness and intramural blood flow in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2004, 10:573-577.

23. Kanazawa S, Tsunoda T, Onuma E et al. VEGF, b-FGF and TGF- β in Crohn's Disease and Ulcerative Colitis: A novel mechanism of Chronic Intestinal Inflammation. *Am J Gastroenterol* 2001, 96:822-828.
24. Bousvaros A, Zurakowski D, Fishman S et al. Serum basic fibroblast growth factor in pediatric Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 1997, 42:378-386.
25. Mizuki A, Tatemichi A, Nishiya H, et al. Mucosal concentration of basic fibroblast growth factor in the healing process in human giant gastric ulcers. *J Gastroenterol Hepatol* 2004, 19:528-534.
26. Ma L, Wang WP, Chow JYC et al. Reduction of EGF is associated with the delay of ulcer healing by cigarette smoking. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000, 278:G10-G17.
27. Grip O, Malm J, Veress B et al. Increased presence of cells containing transforming growth factor alpha (TGF- α) in ulcerative colitis, both during active inflammation and in remission. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000, 12:761-760.
28. Fiocchi C. TGF- β /Smad signalling defects in inflammatory bowel disease: mechanisms and possible novel therapies for chronic inflammation. *J Clin Invest* 2001, 108:523-526.
29. Sturm A, Schulte C, Schatton R et al. Transforming growth factor-beta and hepatocyte growth factor plasma levels in patients with inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000, 12:445-450.
30. Baumgart DC, Vierziger K, Sturm A, et al. Mesalamine promotes intestinal epithelial wound healing in vitro through a TGF-beta-independent mechanism. *Scand J Gastroenterology* 2005, 40:958-964.
31. Oz HS, Ray M, Chen TS, McClain CJ. Efficacy of a transforming growth factors beta 2 containing nutritional support formula in a murine model of inflammatory bowel disease. *J Am Coll Nutr* 2004, 23:220-226.

32. Reigstad LJ, Varhaug JE, Lillehaug JR. Structural and functional specificities of PDGF-C and PDGF-D, the novel members of platelet-derived growth factors family. *FEBS J* 2005, 272:5723-5741.
33. Raines EW. PDGF and cardiovascular disease. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004, 15:237-254.
34. Saito S, Tsuno NH, Sunami E et al. Expression of platelet-derived endothelial cell growth factor. *J Gastroenterol* 2003, 38:229-237.
35. Brown NS, Jones A, Fujiyama C et al. Thymidine phosphorylase induces carcinoma cell oxidative stress and promotes secretion of angiogenic factors. *Cancer Research* 2000, 60:6298-6302.
36. Arihiro S, Ohtani H, Hiwatashi N et al. Vascular smooth muscle cells and pericytes express MMP-1, MMP-9, TIMP-1 and type I procollagen in inflammatory bowel disease. *Histopathology* 2001, 39:50-59.
37. Von Lampe B, Barthel B, Coupland SE et al. Differential expression of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in colon mucosa of patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 2000, 47:63-73.
38. Radisky DC, Bissell MJ. Matrix metalloproteinase-induced genomic instability. *Curr Opin Genet Dev* 2006, 16:45-50.
39. Medina C, Videla S, Radomski A et al. Therapeutic effect of Phenantroline in two rat models of inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2001, 36:1314-1319.
40. Tsukada Y, Nakamura T, Iimura M et al. Cytokine profile in colonic mucosa of ulcerative colitis correlates with disease activity and response to granulocytapheresis. *Am J Gastroenterol* 2002, 97:2820-2828.
41. Li MC, He SH. IL-10 and its related cytokines for treatment of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2004, 10:620-625.

42. Schulte C, Goebell H, Roher HD et al. Genetic determinants of IL-6 expression levels do not influence bone loss in inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 2001, 46:2521-2528.
43. Nielsen OH, Kirman I, Rudiger N et al. Upregulation of IL-12 and -17 in active inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2003, 38:180-185.
44. Siegmund B. Interleukin-1 β converting enzyme (caspase-1) in intestinal inflammation. *Biochemical Pharmacology* 2002, 64:1-8.
45. Nakamura S, Otani T, Ijiri Y et al. IFN- γ -dependent and -independent mechanisms in adverse effects caused by concomitant administration of IL-18 and IL-12. *J Immunol* 2000, 164:3330-3336.
46. Banks C, Bateman A, Payne R et al. Chemokine expression in IBD. Mucosal chemokines expression is unselectively increased in both ulcerative colitis and Crohn's disease. *J Pathol* 2003, 199:28-35.
47. Ardizzone S, Bianchi Porro G. Biologic therapy for inflammatory bowel disease. *Drugs* 2005, 65:2253-2286.
48. Isaacs KL, Lewis JD, Sandborn WJ et al. State of the art: IBD therapy and clinical trials in IBD. *Inflamm Bowel Dis* 2005, 11(Suppl 1):S3-12.
49. Riordan JF, Shapiro R. Isolation and enzymatic activity of angiogenin. *Methods Mol Biol* 2001, 160:375-385.
50. Ribatti D, Marzullo A, Nico B et al. Erythropoietin as an angiogenic factor in gastric carcinoma. *Histopathology* 2003, 42:246-250.
51. Kapsoritakis A, Koukourakis MI, Sfiridaki A et al. Mean platelet volume: a useful marker of inflammatory bowel disease activity. *Am J Gastroenterol* 2001, 96:776-781
52. Yamakawa M, Liu LX, Date T et al. Hypoxia-inducible factor-1 mediates activation of cultured vascular endothelial cells by inducing multiple angiogenic factors. *Circulation Research* 2003, 93:664.

53. Fiedler U, Krissl T, Koidl S et al. Angiopoietin-1 and Angiopoietin-2 share the same binding domains in the Tie-2 receptor involving the first Ig-like loop and the epidermal growth factor-like repeats. *J Biol Chem* 2003, 278:1721-1727.
54. Katsanos KH, Tsatsoulis A, Christodoulou D et al. Reduced serum insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and IGF-binding protein-3 levels in adults with inflammatory bowel disease. *Growth Horm IGF Res* 2001, 11:364-367
55. Wu AW, Gu J, Li ZF et al. COX-2 expression and tumor angiogenesis in colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2004, 10:2323-2326.
56. Bonner GF. Using COX-2 inhibitors in IBD: Anti-inflammatories inflame a controversy. *Am J Gastroenterol* 2002, 97:783-784.
57. Singer II, Kawka DW, Schloemann S et al. Cyclooxygenase 2 is induced in colonic epithelial cells in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1998, 115:297-306.
58. Hendel J, Nielsen OH. Expression of cyclooxygenase-2 in active inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 1997, 92:1170-1173.
59. Καψωριτάκης AN, Ποταμιάνος ΣΠ. Ο ρόλος της διατροφής στη νόσο Crohn. *Ιατρική* 2005, 87:279-287.
60. Gaetke LM, Oz HS, De Villiers WJS et al. The Leptin defense against wasting is abolished in the IL-2-deficient mouse model of inflammatory bowel disease. *J Nutr* 2002, 132:893-896.
61. Esemuede N, Lee T, Pierre-Paul D et al. The role of thrombospondin-1 in human disease. *Journal of Surgical Research* 2004, 122:135-142.
62. Iruela-Arispe ML, Luque A, Lee N. Thrombospondin modules and angiogenesis. *Int J Biochem Cell Biol* 2004, 36:1070-1078.
63. Dixelius J, Cross MJ, Matsumoto T et al. Endostatin action and intracellular signalling: b-catenin as a potential target? *Cancer Letters* 2003, 196:1-12.
64. Doll JA, Soff GA. Angiostatin. *Cancer Treat Res* 2005, 126:175-204.

65. Liu M, Imam H, Oberg K, Zhou Y. Gene transfer of vasostatin, a calreticulin fragment, into neuroendocrine tumor cells results in enhanced malignant behavior. *Neuroendocrinology* 2005, 82:1-10.
66. Corbacho AM, De la Escalera MG, Clapp C. Roles of prolactin and related members of the prolactin/growth hormone/placental lactogen family in angiogenesis. *Journal of Endocrinology* 2002, 173:219-238.
67. Cox MC, Permenter M, Figg WD. Angiogenesis and prostate cancer: Important laboratory and clinical findings. *Curr Oncol Rep* 2005, 7:215-219.
68. Fucumoto S, Sakaguchi T, You X, et al. Tick troponin I-like molecule is a potent inhibitor for angiogenesis. *Microvasc Res* 2006 April 21.
69. Mooberry SL. Mechanism of action of 2-methoxyestradiol: new developments. *Drug Resistance Updates* 2003, 6:355-361.
70. Slungaard A. Platelet factor 4: a chemokine enigma. *Int J Biochem Cell Biol* 2005, 37:1162-1167.
71. Anonymous. Angiogenesis antiangiogenic therapy. *Curr Probl Cancer* 2002, 26:1-60.
72. Von Marschall Z, Scholz A, Cramer T et al. Effects of Interferon Alpha on vascular endothelial growth factor gene transcription and tumor angiogenesis. *Journal of the national Cancer Institute* 2003, 95:437-448.
73. Hu GF. Neomycin inhibits the angiogenic activity of fibroblast and epidermal growth factors. *Biochem Biophys Res Commun* 2001, 287:870-874.
74. Mahadevan U, Loftus EV, Tremaine WJ et al. Safety of selective cyclooxygenase-2 inhibitors in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2001, 97:910-914.
75. Teo SK. Properties of thalidomide and its analogues: implication for anticancer therapy. *AAPS J* 2005, 22:E14-19.
76. Vasiliauskas EA, Kam LY, Abreu-Martin MT et al. An open-label pilot study of low-dose thalidomide in chronically active, steroid-dependent Crohn's disease. *Gastroenterology* 1999, 117:1278-1287.

77. Ehrenpreis ED, Kane SV, Cohen LB et al. Thalidomide therapy for patients with refractory Crohn's disease: an open-label trial. *Gastroenterology* 1999, 117:1271-1277.
78. Bauditz J, Wedel S, Lochs H. Thalidomide reduces TNF- α and IL-12 production in patients with chronic active Crohn's disease. *Gut* 2002, 50:196-200.
79. Rutgeets P, Van Assche G, Vermeire S. Optimizing anti-TNF treatment in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2004, 126:1593-1610.
80. Brew K, Dinakarandian D, Nagase H. Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and function. *Biochim Biophys Acta* 2000;1477:267-283.
81. Chirco R, Liu X-W, Jung K-K, Choi Kim H-R. Novel functions of TIMPs in cell signaling. *Cancer Metastasis Rev* 2006;25:99-113.
82. Lambert E, Dasse E, Haye B, Petitfrere E. TIMPs as multifacial proteins. *Crit Rev Oncol Hematol* 2004;49:187-198.
83. Fernandez C A, Moses M A. Modulation of angiogenesis by tissue inhibitor of metalloproteinase-4. *Biochem Biophys Res Com* 2006;345:523-529.
84. Louis E, Ribbens C, Godon A, Franchimont D, De Groote D, Hardy N, Boniver J, Belaiche J, Malaise M. Increased production of matrix metalloproteinase-3 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 by inflamed mucosa in inflammatory bowel disease. *Clin Exp Immunol* 2000;120:241-246.
85. von Lampe B, Barthel B, Coupland SE, Riecken E-O, Rosewicz S. Differential expression of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in colon mucosa of patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 2000;47:63-73.
86. Arihiro S, Ohtani H, Hiwatashi N, Torii A, Sorsa T, Nagura H. Vascular smooth muscle cells and pericytes express MMP-1, MMP-9, TIMP-1 and type I procollagen in inflammatory bowel disease. *Histopathology* 2001;39:50-59.
87. Wiercinska-Drapalo A, Jaroszewicz J, Flisiak R, Prokopowicz D. Plasma matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 as biomarkers of ulcerative colitis activity. *World J Gastroenterol* 2003;9:2843-2845.

88. Wasteson A, Westermark B. Release of a cell growth promoting factor from human platelets. *Thromb Res* 1976;8:493-500.
89. Heldin C-H, Westermark B. Mechanism of action and in vivo role of platelet-derived growth factor. *Physiol Rev* 1999;79:1283-316.
90. LaRochelle WJ, Jeffers M, McDonald WF, Chillakuru RA, Giese NA, Lokker NA, et al. PDGF-D, a new protease-activated growth factor. *Nat Cell Biol* 2001;3:517-21.
91. Lindblom P, Gerhardt H, Liebner S, Abramsson A, Enge M, Hellstrom M, et al. Endothelial PDGF-B retention is required for proper investment of pericytes in the microvessel wall. *Genes Dev* 2003;17:1835-40.
92. Heldin CH, Westermark B. Platelet-derived growth factor: mechanism of action and possible in vivo function. *Cellular Regulation* 1990;1:555-566.
93. Cao R, Brakenhielm E, Li X. Angiogenesis stimulated by PDGFCC, a novel member in the PDGF family, involves activation of PDGFR-alphaalpha and -alphabeta receptors. *FASEB J* 2002;16:1575-83.
94. Chait A, Ross R, Albers JJ, Bierman EL. Platelet-derived growth factor stimulates activity of low density lipoprotein receptors. *Proceeding of the National Academy of Science of the USA* 1980;77:4084-4088.
95. Betsholtz C, Karlsson L, Lindahl P. Developmental roles of platelet-derived growth factors. *BioEssays* 2001;23:494-507.
96. James C. Bonner. Regulation of PDGF and its receptors in fibrotic diseases. *Cytokine and Growth Factor Reviews* 2004;15:255-273.
97. Kumagai S, Ohtani H, Nagai T, Funa K, Hiwatashi N, Shimosegawa T, Nagura H. Platelet-derived growth factor and its receptors are expressed in areas of both active inflammation and active fibrosis in inflammatory bowel disease. *Tohoku J Exp Med* 2001;195:21-33.
98. Naito Y, Yoshikawa T. Role of matrix metalloproteinases in inflammatory bowel disease. *Mol Aspects Med* 2005;26:379-390.

99. Ravi A, Garg P, Sitaraman S. Matrix metalloproteinases in inflammatory bowel disease: Boon or a bane? *Inflamm Bowel Dis* 2007;13:97-107.
100. McKaig BC, McWilliams D, Watson SA, Mahida YR. Expression and regulation of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and matrix metalloproteinases by intestinal myofibroblasts in inflammatory bowel disease. *Am J Pathol* 2003;162:1355-1360.
101. Delclaux C, Delacourt C, D'Ortho MP, Boyer V, Lafuma C, Harf A. Role of gelatinase B and elastase in human polymorphonuclear neutrophil migration across basement membrane. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996;14:288-295.
102. Kadri Z, Petifre E, Boudot C, et al. Erythropoietin induction of tissue inhibitors of metalloproteinase-1 expression and secretion is mediated by mitogen-activated protein kinase and phosphatidylinositol 3-kinase pathways. *Cell Growth Differ* 2000;11:573-580.
103. Kapsoritakis AN, Koukourakis MI, Sfiridaki A, Potamianos SP, Kosmadaki MG, Koutroubakis IE, Kouroumalis EA. Mean platelet volume: A useful marker of inflammatory bowel disease activity. *Am J Gastroenterol* 2001;96:776-781.
104. Medina C, Radomski MW. Role of matrix metalloproteinases in intestinal inflammation. *J Pharm Exper Ther* 2006;318:933-938.
105. Fernandez CA, Moses MA. Modulation of angiogenesis by tissue inhibitor of metalloproteinase-4. *Biochem Biophys Res Commun* 2006;345:523-529.
106. Jiang Y, Wang M, Celiker MY, Liu YE, Sang QX, Goldberg ID, Shi YE. Stimulation of mammary tumorigenesis by systemic tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 4 gene delivery. *Cancer Res* 2001;61:2365-2370.
107. Radomski A, Jurasz P, Sanders EJ, Overall CM, Bigg HF, Edwards DR, Radomski MW. Identification, regulation and role of tissue inhibitor of metalloproteinase-4 (TIMP-4) in human platelets. *Br J Pharmacol* 2002;137:1330-1338.
108. Andoh A, Yoshida T, Yaki Y, Bamba S, Hata K, Tsujikawa T, Kitoh K, Sasaki M, Fujiyama Y. Increased aggregation response of platelets in patients with inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol* 2006;41:47-54.

109. Boujrad N, Ogwuegbu SO, Garnier M, Lee CH, Martin BM, Papadopoulos V. Identification of a stimulator of steroid hormone synthesis isolated from testis. *Science* 1995;268:1609-1612.
110. Nothnick WB, Soloway PD, Curry TE. Pattern of messenger ribonucleic acid expression of tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) during testicular maturation in male mice lacking a functional TIMP-1 gene. *Biol Reprod* 1998;59:364-370.
111. Tayebjee MH, Lip GYH, Blann AD, MacFadyen RJ. Effects of age, gender, ethnicity, diurnal variation and exercise on circulating levels of matrix metalloproteinases (MMP)-2 and -9, and their inhibitors, tissue inhibitors of matrix metalloproteinases (TIMP)-1 and -2. *Thromb Res* 2005;115:205-210.
112. Vattay P, Gambier E, Morales RE, Kate K. Effect of orally administered platelet-derived growth factor (PDGF) on healing of chronic duodenal ulcers and gastric secretion in rats. *Gastroenterology* 1991;100:A180. James C. Bonner. Regulation of PDGF and its receptors in fibrotic diseases. *Cytokine and Growth Factor Reviews* 2004;15:255-273.
113. Watanabe S, Maehiro K, Hirose M et al. Modulation of gastric mucosal restoration by growth factors in a culture cell model. *Gastroenterology* 1994;106:A209.
114. Guglietta A, Hervada T, Nardi RV, Lesh CA. Effect of platelet-derived growth factor-BB on indomethacin-induced gastric lesions in rats. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 1992;27:673-676.
115. Sandor Z, Kusstatcher S, Szeli D, Szabo S. Effect of platelet-derived growth factor in experimental colitis in rats. *Orvosi Hetilap* 1995;136(20):1059-1061.
116. Akira Andoh, Sanae Fujino, Takafumi Okuno, Yoshihide Fujiyama, Tadao Bamba. Intestinal subepithelial myofibroblasts in inflammatory bowel diseases. *J Gastroenterol* 2002;37:33-37. James C. Bonner. Regulation of PDGF and its receptors in fibrotic diseases. *Cytokine and Growth Factor Reviews* 2004;15:255-27.
117. Yanhua Hu, Georg Schett, Yiping Zou, Hermann Dietrich, Qingbo Xu. Abundance of platelet-derived growth factors (PDGFs), PDGF receptors and activation of mitogen-

activated protein kinases in brain decline with age. *Molecular Brain Research* 1998;53:251-258.

118. I. Drubaix, A. Giakoumakis, L. Robert, A.M. Robert. Preliminary data on the age-dependent decrease in basic fibroblast growth factor and platelet-derived growth factor in the human vein wall and in their influence on cell proliferation. *Gerontology* 1998;44:9-14.

119. Edelberg JM, Lee SH, Kaur M, Tang L, Feirt NM, McCabe S, Bramwell O, Wong SC, Hong MK. Platelet-derived growth factor –AB limits the extent of myocardial infarction in a rat model: feasibility of restoring impaired angiogenic capacity in the aging heart. *Circulation* 2002;105:608-613.

120. Gernot Weibrich, Wilfried K.G. Kleis, Gerd Hafner, Walter E. Hitzler. Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex, and platelet count. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery* 2002;30:97-102.