



ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΘΡΟΜΒΩΣΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΩΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ



Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

***"Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΜΕΝΩΝ ΜΕΣΩ
ΠΡΟΤΕΑΣΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΣΤΟ ΠΕΡΙ-ΕΓΧΕΙΡΗΤΙΚΟ
ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΟ ΕΠΕΙΣΟΔΙΟ "***

υπό

ΑΣΣΑΦ Α. ΣΑΟΥΑΦΤΑ

Ειδικευόμενου Καρδιολογικής

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των
απαιτήσεων για την απόκτηση του
Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης
«Θρόμβωση και Αντιθρομβωτική Αγωγή»

Λάρισα, 2021

Επιβλέπων:

- Χαλκιάς Αθανάσιος, Επίκουρος Καθηγητής Αναισθησιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:

- Ντάιος Γεώργιος, Αναπληρωτής Καθηγητής Εσωτερικής Παθολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.
- Ξηρομερήσιου Γεωργία, Επίκουρος Καθηγήτρια Νευρολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.
- Κούβελος Γεώργιος, Επίκουρος Καθηγητής Αγγειοχειρουργικής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

Αναπληρωματικό μέλος:

- Ματσάγκας Μιλτιάδης, Καθηγητής Αγγειοχειρουργικής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

Τίτλος εργασίας στα αγγλικά:

«The role of protease-activated receptors (PARs) in perioperative stroke»

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Στην οικογένειά μου...

ΑΣΣΑΦ Α. ΣΑΟΥΑΦΤΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το περιεγχειρητικό εγκεφαλικό επεισόδιο είναι η πιο ανεπιθύμητη επιπλοκή για τους ασθενείς, καθώς και για τους χειρουργούς και τους αναισθησιολόγους. Ο αναφερόμενος κίνδυνος περιεγχειρητικού εγκεφαλικού επεισοδίου ποικίλλει ανάλογα με τον τύπο της χειρουργικής επέμβασης.

Η συχνότητα εμφάνισης δεν είναι γενικά υψηλή (περίπου 0,1-1,9%) σε μη καρδιακή, μη νευρολογική και μη σημαντική χειρουργική επέμβαση. Ωστόσο μπορεί να εμφανιστεί σε έως και 10% των ασθενών που υποβάλλονται σε εγχείρηση καρδιάς ή εγκεφάλου υψηλού κινδύνου. Επίσης, μπορεί να αναπτυχθεί διεγχειρητικά ή μετεγχειρητικά μετά την ανάρρωση από αναισθησία, γεγονός που δυσκολεύει την έγκαιρη αναγνώρισή του, καθώς και τον χρόνο έναρξης, περιορίζοντας την πιθανή χρήση θρομβολυτικής θεραπείας, με συνέπεια την κακή νευρολογική και συνολική έκβαση του ασθενούς(1).

Πρόσφατα δεδομένα επισημαίνουν τον ρόλο των προτεασών και των, διαμέσω αυτών, ενεργοποιημένων υποδοχέων (PAR's) στην παθοφυσιολογία του νευρικού συστήματος, καθώς έχει αποδειχθεί ότι η ποικιλομορφία των επιδράσεων των PARs στη νευρική λειτουργία και η ευρεία κατανομή τους στο νευρικό σύστημα τους καθιστούν ελκυστικούς θεραπευτικούς στόχους για τις νευρολογικές διαταραχές(2).

Λέξεις- Κλειδιά: Δια των προτεασών ενεργοποιημένοι υποδοχείς, Περιεγχειρητικό εγκεφαλικό επεισόδιο, Θρομβίνη, Par's στο νευρικό σύστημα, Εμφρακτο, Εμβολισμός, Αιμορραγία, Ισχαιμία.

ABSTRACT

Peroperative stroke is the most undesirable complication for patients as well as for surgeons and anesthesiologists. The reported risk of perioperative stroke varies depending on the type of surgery.

The incidence is generally not high (approximately 0.1-1.9%) in non-cardiac, non-neurological and non-major surgery. However, it can occur in up to 10% of patients undergoing high-risk heart or brain surgery, and may develop intraoperatively or postoperatively after recovery from anesthesia, making it difficult to identify early as well as the time of onset, limiting the possible use of thrombolytic therapy, thus leading to poor neurological and overall patient outcome (1).

Recent data highlight the role of proteinases and their activated receptors (PAR's) in the pathophysiology of the nervous system, as the diversity of the effects of PARs on neural function and their wide distribution in the nervous system make them attractive therapeutic targets for neurological(2).

Key words: Protease-activated receptors, Perioperative stroke, Thrombin, PAR's in nerve system, Stroke, Embolism, Hemorrhage, Ischemia.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	σελ.4
ABSTRACT.....	σελ.5
<u>Κεφάλαιο 1</u>	
1. Εισαγωγή	
1.1 Οι υποδοχείς PARS - protease activated receptors.....	σελ.8
1.2 Η προέλευση της θρομβίνης.....	σελ.8-9
1.3 Η κυτταρική δράση της θρομβίνης.....	σελ.9-10
2. Η οικογένεια των PARs.....	σελ.11
2.1 Η προέλευση και η δομή των υποδοχέων PAR.....	σελ.11-13
2.2 Η συνεισφορά των υποδοχέων PAR στον εγκέφαλο.....	σελ.13-14
3. Η φυσιολογία και φαρμακολογία των υποδοχέων PAR.....	σελ.14
3.1 Γενικά.....	σελ.14-16
3.2 Ο ρόλος των υποδοχέων PARs στα αγγεία.....	σελ.16-18
3.3 Ο ρόλος των υποδοχέων PAR στη φυσιολογία και την ασθένεια...	σελ.18-21
3.4 Ο ρόλος των υποδοχέων PAR στη φλεγμονή και την ανοσολογική απάντηση.....	σελ 21-24
3.5 Ο ρόλος των υποδοχέων PAR στη νευρωνική ανάπτυξη, Νευροεκφυλισμό και νευροπροστασία.....	σελ 24-25
4. Παθοφυσιολογία του περιεγχειρητικού εγκεφαλικού επεισοδίου.....	σελ.25-29
<u>Κεφάλαιο 2</u>	
ΣΚΟΠΟΣ	σελ.30
ΜΕΘΟΛΟΓΙΑ.....	σελ.30
<u>Κεφάλαιο 3</u>	
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	σελ.31-32
1. Ο διπλός ρόλος των υποδοχέων PAR στην νευροπαθογένεια.....	σελ.32-33
2. Θεραπεία.....	σελ.33-34
<u>Κεφάλαιο 4</u>	
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	σελ.34-36
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ.....	σελ.37
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	σελ.38-42

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

His	Ιστιδίνη
Asp	Ασπαρτικό όξι
Ser	Σερίνη
Arg	Αργινίνη
Lys	Λυσίνη
Tyr	Τυροσίνη
APC	Ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C
ΚΝΣ	Κεντρικό νευρικό σύστημα
GP	Γλυκοπρωτεΐνη
CABG	Αορτοστεφανιαία παράκαμψη
NO	Μονοξείδιο του αζώτου
HUVEC	Ενδοθηλιακά κύτταρα της ανθρώπινης ομφαλικής φλέβας
TNF α	Παράγοντας νέκρωση όγκου
ICH	Ενδοεγκεφαλική αιμορραγία
CEA	Καρωτιδικήενδαρτηρεκτομή
RhoA	Ras homolog gene family, member A
NMDA	N-Methyl-d-aspartic acid
EVT	Ενδοαγγειακή θρομβεκτομή

Κεφάλαιο 1

1. Εισαγωγή

1.1 Οι υποδοχείς PARs - protease activated receptors

Έχουν περάσει 30 χρόνια από την ανακάλυψη του πρωτοτύπου διαμέσου της πρωτεάσης ενεργοποιημένου υποδοχέα(PAR), καθώς αυτή η ανακάλυψη πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια μιας προσπάθειας κατανόησης του μηχανισμού με τον οποίο δρά η θρομβίνη. Η θρομβίνη έχει πολλαπλές βιολογικές δράσεις. Ως πρωτεάση της σερίνης χαρακτηρίζεται από μια μοναδική καταλυτική τριάδα αποτελούμενη από σερίνη, ιστιδίνη και ασπαρτικό οξύ. Η τριάδα αυτή είναι υπεύθυνη για την υδρόλυση πεπτιδικών δεσμών. Μέσω αυτής της δράσης της, η θρομβίνη μπορεί και ενεργοποιεί μια οικογένεια υποδοχέων επτά διαμεμβρανικών τμημάτων (seven transmembrane domain receptor family) που διασυνδέονται με G πρωτεΐνες (G protein-coupled receptors, GPCRs). Επιπλέον επειδή η ενεργοποίηση των υποδοχέων απαιτεί την ενζυματική δράση της θρομβίνης, ορίζεται με αυτόν τον τρόπο μία νέα οικογένεια διαμεμβρανικών υποδοχέων που ενεργοποιούνται από πρωτεάσες, τους PARs (Protease Activated Receptors). Οι ενεργοποιημένοι με πρωτεάση υποδοχείς (PARs) ανήκουν στην οικογένεια υποδοχέων, συζευγμένων με πρωτεΐνη G (GPCRs). Η ενεργοποίησή τους προκύπτει από την ειδική διάσπαση, από πρωτεάσες, της αμινοτελικής αλληλουχίας που εκθέτει μια νέα N-τερματική αλληλουχία ως ενσωματωμένο πρόσδεμα, το οποίο στη συνέχεια δεσμεύεται ενδομοριακά για να ενεργοποιήσει τον υποδοχέα(3,4).

1.2 Η προέλευση της θρομβίνης

Η θρομβίνη είναι μία σερινοπρωτεάση της οικογένειας των ενδοπεπτιδασών S1. Η οικογένεια αυτή περιλαμβάνει επίσης τα ένζυμα της πήξης του αίματος (παράγοντες VIIa, IXa, Xa, XIa, XIIa, πρωτεΐνη C), ινωδολυτικά ένζυμα (πλασμίνη, ενεργοποιητές πλασμινογόνου) και ένζυμα του συμπληρώματος (C1s, C1r, πρωτεΐνη C2, πρωτεΐνη D, παράγοντας I). Η θρομβίνη παράγεται στο πλάσμα του αίματος από την ανενεργό της μορφή, την προθρομβίνη. Η προθρομβίνη συντίθεται στο ήπαρ, εκκρίνεται και εισέρχεται στην κυκλοφορία, όπου στο προτελευταίο στάδιο της διαδικασίας της πήξης του αίματος μετατρέπεται σε θρομβίνη. Το αμινοτελικό άκρο της προθρομβίνης φέρει 10 κατάλοιπα γλουταμινικού οξέως, τα οποία καρβοξυλιώνονται στη θέση γ από ένα σύστημα που εξαρτάται από την βιταμίνη K. Τα καρβοξυ-γλουταμινικά αποτελούν ισχυρούς χημικούς παράγοντες για το Ca²⁺, το οποίο προσδέεται στην προθρομβίνη και την αγκυροβολεί σε μεμβράνες, που προκύπτουν από αιμοπετάλια του αίματος, ως επακόλουθο του τραύματος. Η λειτουργική σπουδαιότητα της πρόσδεσης της προθρομβίνης σε μεμβράνες φωσφολιπιδίων είναι

ότι φέρνει την προθρομβίνη πολύ κοντά με τον παράγοντα X, η οποία είναι μια σερινοπρωτεάση, και τον παράγοντα V, που είναι μια διεγερτική πρωτεΐνη με αποτέλεσμα να επιταχύνει την ενεργοποίηση της προθρομβίνης πάνω από 10^4 φορές προς παραγωγή θρομβίνης. Ο παράγοντας Xa (ενεργοποιημένος X) κόβει την προθρομβίνη αρχικά στην R320 (αρίθμηση προθρομβίνης), οπότε παράγεται η μειζοθρομβίνη και στη συνέχεια στην R271 (προς παράγωγη α-θρομβίνης και του θραύσματος που περιέχει τα τμήματα 1 και 2 της προθρομβίνης. Η παραγόμενη θρομβίνη απελευθερώνεται από το σύμπλοκο προθρομβινάσης (παράγοντες Va και Xa, φωσφολιπίδια και Ca^{2+}) και είναι έτοιμη να αντιδράσει με διάφορα υποστρώματα.

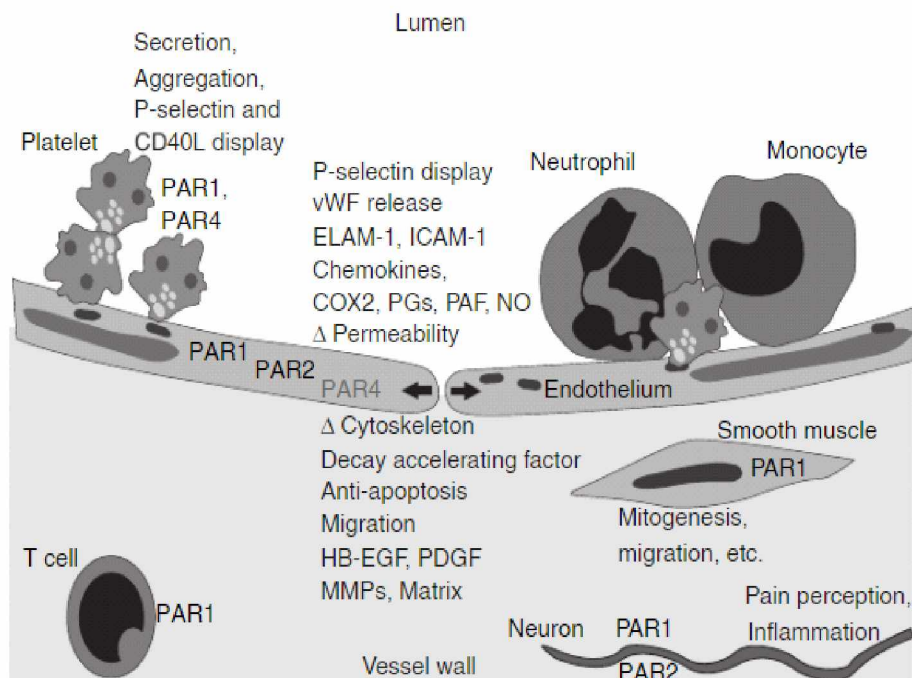
Η α-θρομβίνη αποτελείται από μια μικρή αλυσίδα A (36 αμινοξέα) και μια καταλυτική B αλυσίδα (259 αμινοξέα), που συνδέονται με δισουλφιδική γέφυρα. Η αλυσίδα A δεν έχει κάποιο γνωστό λειτουργικό ρόλο, ενώ η αλυσίδα B περιέχει το ενεργό κέντρο και όλους τους μέχρι τώρα γνωστούς λειτουργικούς επιτόπους της θρομβίνης. Οι περιοχές που περιέχονται στην αλυσίδα B και έχουν ιδιαίτερη σημασία στην αλληλεπίδραση της θρομβίνης με τα υποστρώματα είναι:

1. Το ενεργό της κέντρο (His57, Asp102, Ser195), μέσω του οποίου διασπά δεσμούς Arg-Ser, βρίσκεται σε μια πτύχωση προς τα μέσα στο κέντρο του μορίου. Γύρω από το καταλυτικό κέντρο υπάρχουν σχηματισμοί σε μορφή θηλιάς (loops) και φορτισμένες περιοχές που προσδιορίζουν την ειδικότητα του ενζύμου.
2. Η περιοχή δέσμευσης ανιόντων I (anion-binding exosite I), μέσω της οποίας αλληλεπιδρά με διάφορα μόρια όπως το ινωδογόνο, τον ισχυρό φυσικό αναστολέα ιρουδίνη, τους υποδοχείς PARs, το ινώδες και την θρομβομοντουλίνη. Το exosite I τοποθετείται ανάμεσα στα αμινοξέα Lys36, His71, Arg73, Arg75, Tyr76, Arg77a και Lys110 ανατολικά του ενεργού κέντρου φέρει υδρόφοβες περιοχές και πολλά φορτισμένα αμινοξέα στην επιφάνειά του, τα οποία καθοδηγούν ηλεκτροστατικά τα διάφορα μόρια κατά την προσέγγισή τους στο ενεργό κέντρο της θρομβίνης.
3. Η περιοχή δέσμευσης ανιόντων II (anion-binding exosite II) αλληλεπιδρά με πολυανιόντικά υποστρώματα όπως οι γλυκοζαμινογλυκάνες και το ισχυρό αντιπηκτικό ηπαρίνη. Η περιοχή αυτή βρίσκεται δυτικά του ενεργού κέντρου και περιέχει τα αμινοξέα Arg93, Lys236, Lys249, Arg101 και Arg233. Διαθέτει ένα σημαντικό αριθμό φορτισμένων αμινοξέων, αλλά δεν περιέχει υδρόφοβα αμινοξέα όπως το exosite I(61). Το σημείο της πρωτεόλυσης βρίσκεται τόσο για τη β, όσο και για τη γθρομβίνη μέσα στην ανιόντική προέκταση δέσμευσης για το ινωδογόνο(62). Οπότε η μετατροπή της α-θρομβίνης σε γ-θρομβίνη συνοδεύεται από απώλεια της πηκτικής της ικανότητας(63,64).

1.3 Η κυτταρική δράση της θρομβίνης

Η θρομβίνη μετατρέπει το ινωδογόνο της κυκλοφορίας σε ινώδη μονομερή, τα οποία πολυμερίζονται σε ινώδες, την ινώδη μήτρα των θρόμβων του αίματος. Η θρομβίνη είναι επίσης υπεύθυνη για κατευθυνόμενες δράσεις στα κύτταρα. Παρέχει το έναυσμα για την αλλαγή σχήματος των αιμοπεταλίων και για την απελευθέρωση ενεργοποιητών των αιμοπεταλίων (ADP, σεροτονίνη και θρομβοξάνη A2), καθώς και χημειοκινών και αυξητικών παραγόντων. Επίσης κινητοποιεί την P-σελεκτίνη και τον προσδέτη CD40 στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων και ενεργοποιεί την ιντεργκρίνη αIIb/β3. Αποτέλεσμα του παραπάνω γεγονότος είναι η ιντεργκρίνη αIIb/β3 να

προσδένεται στο ινωδογόνο και στον παράγοντα vonWillbrand (vWF), ώστε να ρυθμίσει την συσσωμάτωση αιμοπεταλίων(3).



Εικόνα 1: Η κυτταρική δράση της θρομβίνης

Η θρομβίνη επίσης δίνει το έναυσμα για την συσσωμάτωση των αιμοπεταλίων, που υποστηρίζει την παραγωγή επιπρόσθετης θρομβίνης. Σε καλλιέργειες ενδοθηλιακών κυττάρων, η θρομβίνη απελευθερώνει τον παράγοντα vWF, εμφανίζει την P-σελεκτίνη στην πλασματική μεμβράνη και προκαλεί τη δράση των χημειοκινών που πυροδοτούν την πρόσδεση αιμοπεταλίων και λευκών αιμοσφαιρίων στην μεμβράνη του ενδοθηλίου *in vivo*. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα επίσης αλλάζουν σχήμα και οι ενδοθηλιακές μονοστοιβάδες εμφανίζουν αυξημένη διαπερατότητα σε απάντηση προς την θρομβίνη, ενέργειες που προωθούν την τοπική διήθηση των πρωτεϊνών του πλάσματος και τον σχηματισμό οιδήματος.

Η θρομβίνη ρυθμίζει την διάμετρο των αιμοφόρων αγγείων μέσω ενδοθηλιακά εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής. Αντίθετα, η δράση της θρομβίνης στα λεία μυϊκά κύτταρα προκαλεί αγγειοσυστολή. Σε καλλιέργεια κυττάρων συνδετικού ιστού ή σε λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων, η θρομβίνη ρυθμίζει την παραγωγή κυτοκινών και στα T λεμφοκύτταρα την σηματοδότηση ασβεστίου, καθώς και άλλες αποκρίσεις. Αυτές οι κυτταρικές δράσεις υποδεικνύουν ότι η θρομβίνη συνδέει την ιστική βλάβη με αιμοστατικές, αλλά και φλεγμονώδεις αποκρίσεις και πιθανόν παίζει ρόλο στην ανοσολογική απάντηση. Αντίθετα, όταν δεν υπάρχει ιστική βλάβη είναι πολύ πιθανό η ρύθμιση ενδοθηλιακών και άλλων κυττάρων από την θρομβίνη να παίζει ρόλο στην εξωαγγειακή μεταφορά των λευκών αιμοσφαιρίων, στην ανακατασκευή του αγγείου και/ή στην αγγειογένεση(4).

2. Η οικογένεια των PARs

2.1 Η προέλευση και η δομή των υποδοχέων PAR

Το γονιδίωμα των θηλαστικών περιέχει τέσσερις PAR υποδοχείς και με την πάροδο του χρόνου έχουν σημειωθεί σημαντικές πρόοδοι στην κατανόηση αυτής της τετραμελούς οικογένειας των συζευγμένων με G πρωτεΐνη υποδοχείς. Οι ανθρώπινοι υποδοχείς PAR1, PAR2, PAR3 και PAR4 ενεργοποιούνται από την θρομβίνη. Ο PAR1 στα ενδοθηλιακά κύτταρα μπορεί να ενεργοποιηθεί και από την ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C (activated protein C, APC). Ο PAR2 ενεργοποιείται από την θρυψίνη, την τρυπτάση και τους παράγοντες πήξης VIIa και Xa, αλλά όχι από την θρομβίνη(2). Και στους τέσσερις PAR υποδοχείς στα θηλαστικά οποιαδήποτε πρωτεάση είναι ικανή ώστε να αναγνωρίσει και να πρωτεολύσει την κατάλληλη περιοχή για ενεργοποίηση και τελικά να δώσει το έναυσμα για την σηματοδότηση των PARs(3). Αρχικά, ανακαλύφθηκε και χαρακτηρίστηκε ο PAR 1 σε μια προσπάθεια προσδιορισμού του μηχανισμού με τον οποίο η θρομβίνη ενεργοποιεί τα αιμοπετάλια. Έκτοτε οι PARs βρέθηκαν ευρέως εκφρασμένοι στο σώμα, να ανταποκρίνονται σε πολλαπλές πρωτεάσες και να συμμετάσχουν σε μια τεράστια σειρά φυσιολογικών διαδικασιών.

Ωστόσο, παρά την ευρεία έκφρασή τους, η λειτουργία των PARs έχει μελετηθεί εκτενέστερα στο αγγειακό σύστημα. Συγκεκριμένα, η σημασία του PAR1 για την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων κατά τη διάρκεια της αρτηριακής θρόμβωσης έχει διερευνηθεί διεξοδικά και οδήγησε στην ανάπτυξη ενός πλήθους ανταγωνιστών PAR1, δύο από τους οποίους βρίσκονται σε δοκιμές Φάσης 3 ως αντιαιμοπεταλιακοί παράγοντες.

Ο PAR1, που είναι και το πρώτο μέλος της οικογένειας των υποδοχέων PAR, ενεργοποιείται όταν η θρομβίνη πρωτεολύει το αμινοτελικό εξωκυττάριο άκρο στη θέση R41/S42. Αυτό το γεγονός τεμαχισμού αποκαλύπτει ένα νέο αμινοτελικό άκρο, στο οποίο η αλληλουχία των πρώτων έξι αμινοξέων είναι SFLLRN, που στην συνέχεια λειτουργεί ως προσδέτης, ο οποίος και προσδέεται ενδομοριακά στο σώμα του υποδοχέα επηρεάζοντας την διαμεμβρανική σηματοδότηση. Διαμοριακή ενεργοποίηση ενός μορίου PAR1 από ένα άλλο μόριο PAR1 μπορεί να επιτευχθεί, αλλά εμφανίζεται λιγότερο αποτελεσματική από την αυτό-ενεργοποίηση. Ένα συνθετικό πεπτίδιο με αλληλουχία SFLLRN, που αντιπροσωπεύει την αλληλουχία των πρώτων έξι αμινοξέων του νέου αμινοτελικού άκρου που δημιουργείται μετά την πρωτεόλυση του PAR1 από την θρομβίνη, μπορεί να ενεργοποιήσει τον PAR1 ανεξάρτητα από την δράση της πρωτεάσης και την πρωτεόλυση του υποδοχέα. Πληροφορίες σχετικά με τον μηχανισμό δράσης του προσδέτη προέρχονται από

τέτοιου είδους πεπτίδια που μιμούνται την δέσμευση του προσδέτη στον υποδοχέα και παρέχουν ένα πλεονεκτικό φαρμακευτικό εργαλείο για την ανίχνευση των επιδράσεων του ενεργοποιημένου PAR1 σε κύτταρα και ιστούς(5).

Το αμινοτελικό άκρο των PAR1 και PAR3 διαθέτει αλληλουχίες κατάλληλες για πέψη από την θρομβίνη. Και στους δυο υποδοχείς η ανιονική αλληλουχία ομοιάζει με την καρβοξυλική ουρά της αντιθρομβωτικής ιρουδίνης. Αυτού του είδους η αλληλεπίδραση είναι σημαντική για την πρωτεόλυση των υποδοχέων σε χαμηλές συγκεντρώσεις θρομβίνης. Η παρουσία αυτών των εκτεταμένων περιοχών των PAR1 και PAR3, κατάλληλων για λύση από την θρομβίνη, υποδεικνύουν ότι αυτοί οι δύο υποδοχείς εμπλέκονται σε ανταποκρίσεις της θρομβίνης έναντι άλλων πρωτεασών. Παρόμοια περιοχή δεν είναι εμφανής στους PAR2 και PAR4. Ο PAR2 δεν μπορεί να υποστεί παραγωγική λύση από την θρομβίνη, ενώ ο PAR4 χρειάζεται υψηλότερες συγκεντρώσεις θρομβίνης για να ενεργοποιηθεί σε σχέση με τον PAR1. Ωστόσο, ο εντοπισμός της θρομβίνης στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων μπορεί να μετατρέψει τον PAR4 σε αποτελεσματικό διαμεσολαβητή στην σηματοδότηση της θρομβίνης(6).

Amino-terminus: Protease binding, cleavage and tethered ligand domains

PAR ₁	PESKATNATLDPK	SFLLRN	PN	DKYEPF	WEDEEKNES	<div style="display: flex; align-items: center; gap: 10px;"> <div style="width: 15px; height: 15px; background-color: #f8d7da; border: 1px solid #c6c8ca;"></div> tethered ligand <div style="width: 15px; height: 15px; background-color: #d1ecf1; border: 1px solid #bee5eb;"></div> hirudin-like site </div>
PAR ₂	GTIQGTNRSSKGR	SLIGKV	DGTSHVTGKGVTVETCF			
PAR ₃	DTNNLAKPTLPIK	TFRGAP	PNS	FEFFP	FSALEEGWT	
PAR ₄	GDDSTPSILPAPR	GYPGQV	CANDSDTLELPDSSRAL			

Extracellular loop II: tethered ligand binding domains

PAR ₁	QTIQVPLNITTCHDVLNETLLEG
PAR ₂	QTIFIPALNITTCHDVLPEQLLVG
PAR ₃	QTIFIPALNITTCHDVLPEQLLVG
PAR ₄	QTFRLARSDRVLCHDALPLDAQAS

Carboxy-terminus: desensitization, endocytosis

PAR ₁	SSECQRYVYSILCKESSDPSSYNSSGQLMASKMDTCSSNLNNSIYKLLT ⁴²⁵
PAR ₂	SHDFRDHAKNALLCRSVRTVKQMQVSLTSKKHSRKSSSYSSSTTVKTSY ³⁹⁷
PAR ₃	SKTRNHSTAYLTK ³⁷⁴
PAR ₄	SAEFRDKVRAGLFRSPGDTVASKASAEGGSRGMGTHSSLLQ ³⁸⁵

Εικόνα 2: Αλληλουχίες του αμινοτελικού άκρου, της δεύτερης θηλιάς και του καρβοξυτελικού άκρου των υποδοχέων PAR1, PAR2, PAR3 και PAR4 του ανθρώπου.

Όπως δείχνει στην εικόνα 2 στο πρώτο πλαίσιο αναφέρονται οι αρχικές αμινοτελικές αλληλουχίες των PARs. Οι ροζ περιοχές αντιπροσωπεύουν τα νέα αμινοτελικά άκρα των υποδοχέων εφόσον έχει ολοκληρωθεί η τοποθέτησή τους στην κυτταρική μεμβράνη και η ενεργοποίησή τους από τις υπεύθυνες πρωτεάσες με εξαίρεση την ιρουδίνη. Η ιρουδίνη πρωτεολύει τους υποδοχείς σε διαφορετική περιοχή και τα νέα αμινοτελικά άκρα που δημιουργούνται φαίνονται με μπλε. Στο δεύτερο πλαίσιο

απεικονίζεται η αλληλουχία της δεύτερης εξωκυτταρικής θηλιάς στην οποία και δεσμεύεται το νέο αμινοτελικό άκρο με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του υποδοχέα. Τέλος, στο τρίτο πλαίσιο απεικονίζεται η αλληλουχία του καρβοξυτελικού άκρου των υποδοχέων PAR. Δεδομένης της επικείμενης κλινικής χρήσης των πρώτων ανταγωνιστών των PAR, είναι καιρός να επανεξετάσουμε τους φυσιολογικούς ρόλους των PAR στα κύτταρα του αίματος και των αιμοφόρων αγγείων, την ανάπτυξη και την πειραματική χρήση ανταγωνιστών των PAR σε αυτά τα συστήματα και της πιθανής κλινικής εφαρμογής αυτών των παραγόντων ως θεραπευτικών για αγγειακές παθήσεις.

2.2 Η συνεισφορά των υποδοχέων PAR στον εγκέφαλο

Μια ματιά στην τεράστια έκταση του έργου που αφορά στους PARs δείχνει τη σημασία αυτών των υποδοχέων σε μια ποικιλία κυτταρικών λειτουργιών σε διαφορετικούς ιστούς, ειδικά στον εγκέφαλο. Πρόσφατες μελέτες που περιελάμβαναν θρομβίνη και PAR στο νευρικό σύστημα έχουν, επίσης, δείξει ότι αυτή η οικογένεια υποδοχέων εμπλέκεται πραγματικά σε ποικίλες λειτουργίες στο νευρικό σύστημα και παίζουν πολύ κρίσιμο ρόλο στη διατήρηση μιας λεπτής ισορροπίας μεταξύ της νευροπροστασίας και του νευροεκφυλισμού κατά τη διάρκεια της φλεγμονής, του τραυματισμού και των καταστάσεων ασθένειας.

Ο κύριος αγωνιστής των PAR1, PAR3 και PAR4 είναι η θρομβίνη, ενώ ο PAR 2 ενεργοποιείται κυρίως μέσω της θρυψίνης. Η θρομβίνη παράγεται από την ανενεργό της μορφή, τη προθρομβίνη, της οποίας το mRNA εκφράζεται σε διάφορα τμήματα του κεντρικού νευρικού συστήματος, όπως ο οσφρητικός βολβός, ο φλοιός, η παρεγκεφαλίδα, ο ιππόκαμπος και ο θάλαμος.

Ο μηχανισμός ενεργοποίησης των PARs περιλαμβάνει πέραν της πρωτεόλυσης του αμινοτελικού άκρου του υποδοχέα, τη δυνατότητα ενεργοποίησης μέσω συνθετικών πεπτιδίων, τα οποία διαθέτουν την κατάλληλη αλληλουχία που αντιπροσωπεύει την αλληλουχία των πρώτων έξι αμινοξέων του νέου αμινοτελικού άκρου που δημιουργείται μετά την πρωτεόλυση(2,7). Αρκετές μελέτες έχουν αποδείξει την παρουσία και των τεσσάρων υποτύπων PAR στον ανθρώπινο εγκέφαλο(55, 65).

Ανοσοϊστοχημική ανάλυση της παρουσίας PAR1 έως και PAR4 στον εγκέφαλο έδειξε ότι η πρωτεΐνη PAR1 εμφανίζεται σε άφθονα επίπεδα στον ιππόκαμπο (στρώμα πυραμιδικών κυττάρων) συγκριτικά με τα χαμηλά επίπεδα έκφρασης του που βρέθηκαν στον φλοιό, το θάλαμο, τον υποθάλαμο, το ραβδωτό σώμα και τις νευρώνες αμυγδαλής(55). Τόσο το mRNA, όσο και η PAR1 πρωτεΐνη έχουν εντοπιστεί στον εγκέφαλο του εμβρύου και του νεογνού(66,67). Οι πρωτεΐνες PAR2 και PAR3 ανιχνεύονται ευρέως στον ιππόκαμπο, το φλοιό, την αμυγδαλή, το θάλαμο, τον υποθάλαμο και το ραβδωτό σώμα (55). Έχει βρεθεί επιπλέον ότι η PAR2 πρωτεΐνη υπάρχει στο κεντρικό και περιφερικό νευρικό σύστημα κατά την εμβρυογένεση, ενώ ο υποδοχέας PAR2 εκφράζεται και από πρωτογενείς νευρώνες της σπονδυλικής στήλης(6). Η πρωτεΐνη PAR4 βρίσκεται στο νευρωνικό σώμα, τους άξονες και τους δενδρίτες του ιππόκαμπου, σε όλα τα στρώματα του φλοιού, το θάλαμο, τον υποθάλαμο και την αμυγδαλή (55).

Επιπλέον, έχει φανεί η λειτουργική συν-έκφραση όλων των υποδοχέων της οικογένειας PAR σε καλλιεργημένα αστροκύτταρα αρουραίου (65), γεγονός που επαληθεύτηκε κατά την διαδικασία μεταγραφής (mRNA) και μετάφρασης (protein) σε λειτουργικά επίπεδα. Η λειτουργική κατάσταση των υποδοχέων επιβεβαιώθηκε με την κινητοποίηση του ασβεστίου κατά τη δοκιμή, και με την χρήση RT-PCR και της ανοσοστατικής έχει ανιχνευτεί η έκφραση του PAR1 και PAR3 σε καλλιεργημένα ολιγοδενδροκύτταρα αρουραίου, καθώς και στην ολιγοδενδροκυτταρική σειρά (65). Παρότι η ολιγοδενδροκυτταρική σειρά εμφανίζει λειτουργικά PAR1, όπως παρατηρήθηκε, ο υποδοχέας PAR3 δεν δείχνει καμία λειτουργική δραστηριότητα. Ακόμη, οι PARs εκφράζονται ιδιαίτερα και σε άλλες περιοχές του νευρικού συστήματος. Στο νωτιαίο μυελό, το PAR1 mRNA βρίσκεται σε υψηλά επίπεδα στους κινητικούς νευρώνες, στα γάγγλια της ραχιαίας ρίζας και στους προγαγγλιονικούς νευρώνες του αυτόνομου νευρικού συστήματος (66). Χρησιμοποιώντας ανοσοκυτταροχημεία, βρέθηκε έκφραση του PAR4 σε περιφερικά νεύρα (24). Εκτός από το νευρικό σύστημα, οι PAR είναι ευρέως κατανομημένοι σε μια ποικιλία κυττάρων και ιστών (7).

3. Η φυσιολογία και φαρμακολογία των υποδοχέων PAR

3.1 Γενικά

Τα αιμοπετάλια είναι το κύριο κυτταρικό συστατικό των αρτηριακών θρόμβων. Στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων εκφράζονται υποδοχείς προσκόλλησης για τον αρχικό εντοπισμό αιμοπεταλίων σε θέσεις αγγειακής βλάβης, κυρίως υποδοχείς για τις πρωτεΐνες του αίματος και των τοιχωμάτων των αγγείων vWF (σύμπλεγμα γλυκοπρωτεΐνης (GP) Ib-V-IX), κολλαγόνο (GPVI και ιντεγκρίνη $\alpha 2\beta 1$) και ινωδογόνο (ιντεγκρίνη $\alpha \text{IIb}\beta 3$). Τα τοπικά αιμοπετάλια ενεργοποιούνται μέσω διαμεσολαβητών που απελευθερώνονται ή σχηματίζονται τοπικά, το ADP (απελευθερώνεται από κόκκους αποθήκευσης εντός αιμοπεταλίων), η θρομβοξάνη A₂ (TxA₂: συντίθεται από αιμοπετάλια ως απόκριση σε διέγερση αγωνιστή), καθώς και η θρομβίνη (το τελικό προϊόν του καταρράκτη πήξης).

Η θρομβίνη ενεργοποιεί ανθρώπινα αιμοπετάλια μέσω δύο PAR, PAR1 και PAR4, ο PAR1 είναι υποδοχέας θρομβίνης υψηλής συγγένειας, ενώ ο PAR4 είναι χαμηλότερης συγγένειας. Αυτό το διπλής συγγένειας σύστημα του υποδοχέα θρομβίνης υποδηλώνει ότι υπάρχουν σημαντικές δομικές διαφορές μεταξύ των δυο αυτών PAR στα αιμοπετάλια.

Η αλληλουχία σύνδεσης της θρομβίνης στο PAR1, η οποία λείπει στο PAR4, διευκολύνει την αποδοτική διάσπαση της θρομβίνης του υποδοχέα PAR1 στα αιμοπετάλια, με αποτέλεσμα να θεωρείται ο κύριος υποδοχέας της θρομβίνης και υπεύθυνος για την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων υπό χαμηλές συγκεντρώσεις θρομβίνης. Επίσης, η παρουσία αντισωμάτων ή μετάλλαξης στην περιοχή αλληλεπίδρασης της θρομβίνης, στον υποδοχέα PAR1, μειώνει σημαντικά την ευαισθησία του PAR1 στη θρομβίνη και έτσι αναστέλλεται η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων σε χαμηλές συγκεντρώσεις θρομβίνης. Η έλλειψη της αλληλουχίας

σύνδεσης της θρομβίνης στον PAR4 σημαίνει πως απαιτούνται υψηλές συγκεντρώσεις θρομβίνης για την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων από τον PAR4, τονίζοντας τη σημασία της αλληλεπίδρασης – σύνδεσης μεταξύ της πρωτεάσης και του υποδοχέα. Παρά τη χαμηλότερη συγγένεια του PAR4 με τη θρομβίνη, τόσο ο PAR1 όσο και ο PAR4 συμβάλλουν στην ενεργοποίηση αιμοπεταλίων σε αρκετές ρυθμίσεις και το εάν οι δύο υποδοχείς επιτελούν διαφορετικές λειτουργίες ή όχι παραμένει άγνωστο.

Τονίζεται ότι η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων μέσω θρομβίνης εξαρτάται εν μέρει από μια ξεχωριστή non-PAR αλληλεπίδραση στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων, τη γλυκοπρωτεΐνη GPIb που λειτουργεί ως υποδοχέας του vWF (σύνδρομο Bernard – Soulier). Η γλυκοπρωτεΐνη αυτή έχει αποδειχθεί ότι συντελεί στην διάσπαση του PAR1 από την θρομβίνη, αφού ασθενείς που έχουν εκ γενετής ανεπάρκεια της εν λόγω γλυκοπρωτεΐνης παρουσιάζουν παρατεταμένη και εξασθενημένη ανταπόκριση των αιμοπεταλίων στη θρομβίνη. Επιπλέον, υπάρχουν κάποια στοιχεία που υποστηρίζουν τον άμεσο σηματοδοτικό ρόλο της γλυκοπρωτεΐνης 1b στα ανθρώπινα αιμοπετάλια (Yap et al., 2000; David et al., 2006).

Γενικότερα οι περισσότερες πληροφορίες όσον αφορά στις λειτουργίες και την σημασία των αιμοπεταλιακών PARs έχουν συλλεχθεί χρησιμοποιώντας ανεπαρκείς έρευνες σε PAR ποντίκια. Τα ποντίκια knock out που είχαν έλλειψη του υποδοχέα PAR1, εμφάνιζαν φυσιολογικές λειτουργίες των αιμοπεταλίων, λόγω του ότι τα ποντίκια δεν εκφράζουν αιμοπεταλιακά PAR1. Αντίθετα, τα ποντίκια που ήταν ανεπαρκή στον υποδοχέα PAR3, εμφάνιζαν μειωμένη ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων υπό χαμηλών συγκεντρώσεων θρομβίνης, εξασθενημένη αιμόσταση (όπως αποδείχθηκε από την μέτρηση του παρατεταμένου bleeding time της ουράς) και τέλος, ήταν προστατευμένα απέναντι σε δύο μοντέλα θρόμβωσης: της προκαλούμενης από θρομβοπλαστίνη, πνευμονική εμβολή, και της προκαλούμενης από χλωριούχο σίδηρο, βλάβη των μεσεντερικών αρτηριών (Weiss et al., 2002). Αυτά τα in vivo ευρήματα υποδηλώνουν ότι, αν και η λειτουργία της σηματοδότησης του υποδοχέα PAR3 δεν είναι άμεση, η λειτουργία συν-παραγοντοποίησης του PAR3 παίζει σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων του ποντικού από τη θρομβίνη(67). Αιμοπετάλια ποντικών που είχαν ανεπάρκεια στον υποδοχέα PAR4, δεν ανταποκρίνονταν στη θρομβίνη και είχαν αισθητά μειωμένη αιμόσταση, καθώς επίσης προστατεύονταν έναντι μιας ποικιλίας θρομβωτικών προκλήσεων σε μεγαλύτερο βαθμό από ότι παρατηρήθηκε στη περίπτωση των ποντικών με ανεπάρκεια του υποδοχέα PAR3(Sambrano et al., 2001; Weiss et al., 2002; Hamilton et al., 2004). Με τον τρόπο αυτό επισημαίνεται η σημασία της, επαγόμενης από θρομβίνη, ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων στην αιμόσταση και τη θρόμβωση και παρέχεται ένα εργαλείο για τη μελέτη των επιδράσεων της, επαγόμενης από θρομβίνη, ενεργοποίησης αιμοπεταλίων στο σχηματισμό του θρόμβου(68).

Έρευνες με αντικείμενο μελέτης τα αιμοπετάλια των πρωτευόντων (non-human primates), τα οποία είναι ίδια με τα ανθρώπινα αιμοπετάλια, έχουν δείξει (Cook et al., 1995; Derian et al., 2003; Chintala et al., 2010) ότι ο φαρμακολογικός αποκλεισμός του υποδοχέα PAR1 μειώνει το σχηματισμό θρόμβων και την αγγειακή απόφραξη με

τρόπο παρόμοιο με αυτόν που παρατηρήθηκε στα ποντίκια με ανεπάρκεια PAR. Επιπρόσθετα, παρείχαν την δυνατότητα να χρησιμοποιηθεί ο υποδοχέας PAR1 ως φαρμακευτικός στόχος για την καταπολέμηση της θρόμβωσης και την ευκαιρία δημιουργίας αποτελεσματικών ανταγωνιστών των PAR.

3.2 Ο ρόλος των υποδοχέων PARs στα αγγεία

Και οι τέσσερις PARs εκφράζονται σε αγγειακούς λείους μυς και ενδοθηλιακά κύτταρα διαφόρων ιστών. Στους ανθρώπους, ο υποδοχέας PAR1 έχει εντοπιστεί στα στρώματα του ενδοθηλίου και των λείων μυών τόσο των αρτηριών όσο και των φλεβών (Nelken et al., 1992; Yang et al., 1997) και φαίνεται να έχουν πολλές λειτουργίες. Σε καλλιέργεια αγγειακών κυττάρων λείων μυών, η θρομβίνη διεγείρει τον πολλαπλασιασμό (McNamara et al., 1993, 1996), τη συστολή (Yang et al., 1997; Chieng-Yane et al., 2011), την υπερτροφία (Chieng-Yane et al., 2011), την εξωκυτταρική παραγωγή μήτρας (Dabbagh et al., 1998; Ivey & Little, 2008) και την απελευθέρωση κυτοκινών (Kranzhofer et al., 1996) και μιτογονικών αυξητικών παραγόντων (Rauch et al., 2007) μέσω ενεργοποίησης του PAR1.

Σε καλλιεργημένα ενδοθηλιακά κύτταρα, η ενεργοποίηση PAR1 διεγείρει την παραγωγή προστακυκλίνης και νιτρικού οξειδίου καθώς και προκαλεί retraction - ανάκληση των κυττάρων (Ngaiza & Jaffe, 1991; Malik & Fenton, 1992; Nagao & Vanhoutte, 1992; Garcia et al., 1993; Hollenberg et al., 1993; Minnear et al., 1993; Ku & Dai, 1997; Sen et al., 2011). Όταν αυτά αξιολογούνται in situ χρησιμοποιώντας άθικτα αρτηριακά παρασκευάσματα, αυτές οι αποκρίσεις μεταφράζονται σε διαμόρφωση -ρύθμιση αγγειακής συσταλτικότητας: η ενεργοποίηση του PAR1 προκαλεί εξαρτώμενη από το ενδοθήλιο, μεσολαβούμενη από NO χαλάρωση αρτηριακών παρασκευασμάτων από τον αρουραίο (Muramatsu et al., 1992; Yang et al., 1992; Hollenberg et al., 1993), κουνέλι (Komuro et al., 1997), Γουινέα χοίρος (Muramatsu et al., 1992), χοίρο (Tsfamariam et al., 1993; Hwa et al., 1996; Hamilton & Cocks, 2000), σκύλο (Tsfamariam, 1994b), πίθηκο, και τον άνθρωπο (Hamilton et al., 1998, 2001b). Η ενδοθηλιακή απομάκρυνση οδηγεί σε άμεση συστολή λείου μυός των αρτηριών με μεσολάβηση PAR 1 σε αρουραίους (Antonaccio et al., 1993; Hollenberg et al., 1993), ινδικό χοιρίδιο 248 H. Lee, J.R. Hamilton / Pharmacology & Therapeutics 134 (2012) 246–259 (Muramatsu et al., 1992), και σκύλο (Tsfamariam, 1994a).

Έχει παρατηρηθεί ότι στις στεφανιαίες αρτηρίες οι οποίες δεν παρουσιάζουν αθηρωμάτωση, η ενεργοποίηση του PAR 1 δεν προκαλεί συστολή, ενώ η θρομβίνη προκαλεί συστολή σε απογυμνωμένες από ενδοθήλιο αρτηρίες εμφανίζοντας στοιχεία αθηροσκλήρωσης (Ku & Dai, 1997), επομένως η έκφραση του PAR 1 σε ενδοθήλιο απαλλαγμένο από αθήρωμα αρτηριών φαίνεται να είναι περιορισμένη παράλο που ανιχνεύεται τόσο στο ενδοθήλιο όσο στους λείους μυς των αρτηριών που εμφανίζουν αθηρωμάτωση (69). Πιο πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι οι προσταγλανδίνες μπορεί να ρυθμίσουν -μειώσουν την έκφραση του PAR 1 των αγγειακών λείων μυών δίνοντας την ευκαιρία για καλύτερη ρύθμιση των μιτογονικών αποτελεσμάτων της θρομβίνης μέσω του PAR 1.

Ο PAR 1 κανονικά στο αγγειακό σύστημα προκαλεί αναλόγως του ενδοθηλίου μέσω του μονοξειδίου του αζώτου αγγειοδιαστολή αλλά η αύξηση του PAR 1 λείων μυών σε καταστάσεις αθηροσκλήρωσης και γενικά σε προ-φλεγμονώδεις καταστάσεις οδηγεί σε αγγειοσυστολή και πιθανώς σε επανστενωτικά φαινόμενα. Αυτή η θεωρία

υποστηρίζεται από την προκαλούμενη υπόταση σε ποντίκια , αρουραίους και ανθρώπους κατόπιν ενεργοποίησης του PAR 1. στις προ-φλεγμονώδεις καταστάσεις η ενεργοποίηση του PAR 1 προκαλεί επίσης απελευθέρωση προ-φλεγμονωδών κυτοκινών (Johnson et al., 1998; Chung et al., 2010) και αυξημένη επιφανειακή έκφραση μορίων προσκόλλησης λευκοκυττάρων (Fu et al., 2005) γεγονός που επισημαίνει τον ρόλο του PAR 1 στην οξεία αγγειακή φλεγμονή . Επιπρόσθετα έχει παρατηρηθεί η αυξημένη έκφραση του PAR 1 στα κύτταρα των μεσαίων λείων μυών μετά από τραυματισμό των αρτηριών των αρουραίων και των μπαμπούνων μέσω καθετήρα -μπαλόνη , επίσης παρατηρήθηκε η αυξημένη έκφρασή του στο νεο-έσω χιτώνα των κυττάρων της προκύπτουσας αγγειακής αλλοίωσης παίζοντας ρόλο στον σχηματισμό και την εξέλιξη της βλάβης (Wilcox et al., 1994) .

Επιπλέον, τα επίπεδα PAR1 mRNA έχει φανεί ότι αυξάνονται περίπου 10 φορές στον λείο μυ της αορτής από αρουραίους με προκαλούμενη από αγγειοτενσίνη II υπέρταση (Capers IV et al., 1997) και αυτή η αυξημένη έκφραση του PAR 1 οδηγεί σε αύξηση της επαγόμενης μέσω της θρομβίνης συστολής του απαλλαγμένου από ενδοθήλιο αορτικού δακτυλίου in vitro (Capers IV et al., 1997) και οι αλλαγές στην έκφραση του αγγειακού λείου μυός PAR 1 συμβάλλουν εν μέρει τουλάχιστον στις μέσω αγγειοτενσίνης II υπερτασικές επιδράσεις.

Στα ποντίκια η ενεργοποίηση του ενδοθηλιακού PAR 1 παίζει σημαντικό ρόλο στην αγγειογένεση αφού τα μισά έμβρυα που παρουσίαζαν ανεπάρκεια σε PAR 1 αδυνατούσαν να αναπτυχθούν λόγω ελαττώματος στο σχηματισμό των αιμοφόρων αγγείων γεγονός που θα μπορούσε να διορθωθεί αντικαθιστώντας την έκφραση του PAR 1 στα ενδοθηλιακά κύτταρα (Griffin et al., 2001).

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα και ο ανθρώπινος αγγειακός λείος μυς εκφράζουν επίσης PAR 2 , καθώς έχει ανιχνευτεί το PAR 2 m-RNA στο ενδοθήλιο και στους λείους μύες των αρτηριών αλλά και των φλεβών . Λειτουργικά η ενεργοποίηση του PAR 2 προκαλεί πολλαπλασιασμό των ανθρωπίνων καλλιεργημένων αορτικών λείων μυϊκών κυττάρων και των HUVECs . Εκτός από τα μιτογονικά αποτελέσματα , η ενεργοποίηση του PAR 2 στα ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα της ομφαλικής φλέβας (HUVECs) προκαλεί την απελευθέρωση του von willebrand factor και την έκφραση του ιστικού παράγοντα – δύο ζωτικής σημασίας στατικά της αιμόστασης .

Όπως οι αγωνιστές του PAR 1 , οι ενεργοποιητές του PAR 2 προκαλούν εξαρτώμενη από το ενδοθήλιο αγγειοχάλαση σε : αρουραίους , ποντίκια και χοίρους , και παρά το γεγονός ότι η ενεργοποίηση του PAR 2 έχει αναφερθεί ότι προκαλεί σύσπαση των αρτηριακών λείων μυών σε απογυμνωμένες από ενδοθήλιο αρτηρίες σε ποντίκια και κουνέλια , το ίδιο δεν ισχύει στην περίπτωση των αρουραίων, χοίρων ή ανθρώπων καθώς in vivo η επιλεγμένη ενεργοποίηση του PAR 2 προκαλεί οξεία υποτασική απάντηση σε αρουραίους και ποντίκια σε αντίθεση με τα ανθρώπινα αρτηριακά παρασκευάσματα όπου προκαλείται εξαρτώμενη από ενδοθήλιο , NO-διαμεσολαβούμενη χάλαση MONO κατόπιν φλεγμονώδους προσβολής (Hamilton et al., 2001a) .

Επιπρόσθετα , έχει φανεί ότι το m-RNA και τα επίπεδα πρωτεΐνης του PAR 2 και όχι του PAR 1 εκφράζονται σε μεγάλο βαθμό σε καλλιεργημένα HUVECs μέσω διαμεσολαβητών φλεγμονής όπως ιντερλευκίνη 1α και TNFα , καθώς και οι αγωνιστές του PAR 2 κινητοποιούν το ασβέστιο σε φλεγμονώδη HUVECs (Mirza et al., 1996; Molino et al., 1997c, 1998; Langer et al., 1999). Επίσης η in vivo θεραπεία των αρουραίων με λιποπολυσακχαρίτη αύξησε την έκφραση του αγγειακού PAR 2 , η

οποία εκδηλώθηκε ως αυξημένη αγγειοδιασταλτική απάντηση των PAR2 αγωνιστών *in vitro* και *in vivo* (Cicala et al., 1999).

Τέλος, η *ex vivo* στοχευόμενη χορήγηση παρόμοιων διαμεσολαβητών φλεγμονής σε ανθρώπινα αρτηριακά παρασκευάσματα αποκάλυψε την εξαρτώμενη από ενδοθήλιο, NO-διαμεσολαβούμενη αγγειοχάλαση απάντηση σε επιλεκτικούς PAR 2 αγωνιστές (Hamilton et al., 2001a).

Συμπερασματικά αυξάνεται η πιθανότητα ότι ο PAR 2 των αγγειακών ενδοθηλιακών κυττάρων διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στις αποκρίσεις των ενδοθηλιακών κυττάρων, ενδεχομένως σε απάντηση σε αντιπηκτικές πρωτεάσεις κατά τη διαδικασία της φλεγμονής και πιθανώς της αγγειογέννησης (Riewald & Ruf, 2005). Ενώ λείπει μια εξήγηση για την ασυμφωνία στις διαμεσολαβούμενες από PAR 2 απαντήσεις στα ενδοθηλιακά κύτταρα μεταξύ ανθρώπων και άλλων ειδών, θα ήταν δελεαστικό να υποθέσει κανείς ότι σχετίζεται με έναν εξελικτικό αποκλίνοντα ρόλο για το PAR2 στο αγγειακό σύστημα.

Σε σύγκριση με τους PAR1 και PAR2, λίγα είναι γνωστά για τη λειτουργία του PAR3 και PAR4 στο αγγειακό σύστημα, αν και οι δύο υποδοχείς PAR3 (Bretschneider et al., 2003) και PAR4 (Bretschneider et al., 2001) είναι παρόντες και εμφανίζονται λειτουργικά σε καλλιεργημένα ανθρώπινα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα. Επιπλέον, ο PAR3 έχει ανιχνευθεί σε HUVECs (Cupit et al., 1999) και στα καλλιεργημένα τριχοειδή ενδοθηλιακά κύτταρα εγκεφάλου αρουραίου (Bartha et al., 2000), ενώ ο PAR4 εκφράζεται σε ενδοθηλιακά κύτταρα ποντικού και συμβάλλει στις αποκρίσεις στη θρομβίνη στα κύτταρα αυτά, *in vitro* και *in vivo* (Kataoka et al., 2003). Η ενεργοποίηση του PAR4 προκαλεί εξαρτώμενη από το ενδοθήλιο χάλαση της αορτής στους αρουραίους με έναν παρόμοιο τρόπο όπως παρατηρήθηκε στην ενεργοποίηση του PAR1 και PAR 2 (Hollenberg et al., 1999). Ωστόσο, στην περίπτωση του PAR2, τέτοιες αποκρίσεις προκαλούνται μόνο σε παρασκευάσματα ανθρώπινης αρτηρίας που υποβάλλονται σε θεραπεία με φλεγμονώδεις μεσολαβητές (Hamilton et al., 2001a).

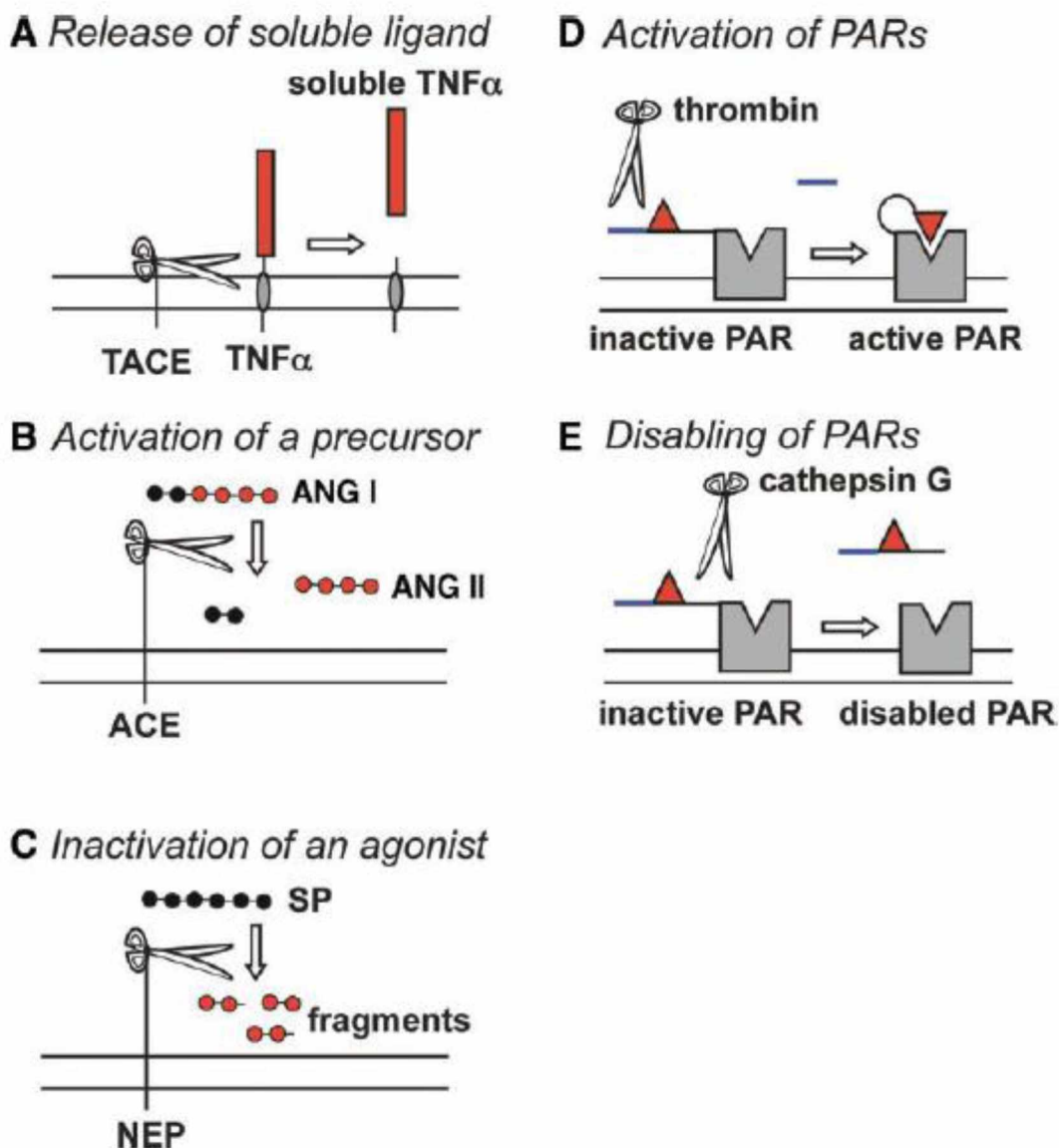
Οι πληροφορίες για τη λειτουργία των PAR3 και PAR4 στο αγγειακό σύστημα προέρχονται από πρόσφατες μελέτες που δείχνουν ότι η ενεργοποίηση είτε του PAR3 είτε του PAR4 σε καλλιεργημένα ανθρώπινα λεία μυϊκά κύτταρα αορτής υποστηρίζει τη συνεχιζόμενη παραγωγή θρομβίνης (Vidwan et al., 2010). Επίσης η έκθεση των ανθρωπίνων αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων σε υψηλά επίπεδα γλυκόζης αύξησε την έκφραση και λειτουργία του PAR4 σε αυτά τα κύτταρα (Dangwal et al., 2011), υποδηλώνοντας έναν πιθανό ρόλο του PAR4 στην αγγειοπάθεια που παρατηρείται στον διαβήτη(8).

3.3 Ο ρόλος των υποδοχέων PAR στη φυσιολογία και την ασθένεια

Οι πρωτεάσες που δρουν στην επιφάνεια των κυττάρων έχουν τη δυνατότητα να δημιουργούν και καταστρέφουν τους αγωνιστές των υποδοχέων καθώς να ενεργοποιούν και να απενεργοποιούν τους υποδοχείς, συνεισφέροντας έτσι σε μια

ζωτικής σημασίας μεταγωγή σήματος. Ορισμένες πρωτεάσες σερίνης που προέρχονται από την κυκλοφορία (π.χ. παράγοντες πήξης), φλεγμονώδη κύτταρα (π.χ., πρωτεάσες μαστοκυττάρων και ουδετερόφιλων), και από πολλές άλλες πηγές (π.χ. επιθηλιακά κύτταρα, νευρώνες, βακτήρια, μύκητες) μπορούν να διασπών τους PARs. Η διάσπαση εντός του εξωκυτταρικού αμινοτελικού άκρου αποκαλύπτει μια περιοχή “θήκη αμινοξέων”, η οποία συνδέεται ενδομοριακά στο δεύτερο εξωκυττάριο βρόχο και ενεργοποιεί τους υποδοχείς για να ξεκινήσει πολλαπλούς καταρράκτες σηματοδότησης. Παρά αυτόν τον μη αναστρέψιμο μηχανισμό ενεργοποίησης, η σηματοδότηση από PARs τερματίζεται αποτελεσματικά με απευαισθητοποίηση υποδοχέα (φωσφορυλίωση υποδοχέων και αποσύνδεση από πρωτεΐνες G) και downregulation (αποικοδόμηση υποδοχέα από κυτταρική επιφάνεια και λυσοσωμικές πρωτεάσες). Η σηματοδότηση πρωτεάσης στους ιστούς εξαρτάται από τη δημιουργία και την απελευθέρωση πρωτεασών, τη διαθεσιμότητα συμπαράγοντων, την παρουσία αναστολέων πρωτεάσης και την ενεργοποίηση και απενεργοποίηση των PARs. Πολλές πρωτεάσες που ενεργοποιούν τους PAR's παράγονται κατά τη διάρκεια βλάβης στους ιστούς και οι PAR's συμβάλλουν σημαντικά στις αποκρίσεις των ιστών στον τραυματισμό, συμπεριλαμβανομένης της αιμόστασης, της επιδιόρθωσης, της επιβίωσης των κυττάρων, της φλεγμονής και του πόνου. Φάρμακα που μιμούνται ή παρεμβαίνουν σε αυτές τις διαδικασίες είναι ελκυστικές θεραπείες: οι επιλεκτικοί αγωνιστές των PAR μπορεί να διευκολύνουν την επούλωση, την επιδιόρθωση και την προστασία, ενώ οι αναστολείς πρωτεάσης και οι ανταγωνιστές PAR μπορούν να εμποδίσουν την επιδείνωση της φλεγμονής και του πόνου. Σημαντικές μελλοντικές προκλήσεις θα είναι η κατανόηση του ρόλου των πρωτεασών και των PAR στους μηχανισμούς φυσιολογικού ελέγχου και των ανθρώπινων ασθενειών και στην ανάπτυξη επιλεκτικών αγωνιστών και ανταγωνιστών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανίχνευση της λειτουργίας και τη θεραπεία της νόσου. Επίσης δεν προκαλεί έκπληξη ότι οι πρωτεάσες συμμετέχουν σε μια σειρά βιολογικών διεργασιών, που κυμαίνονται από την αποδόμηση των διαιτητικών πρωτεϊνών στον αυλό του γαστρεντερικού σωλήνα έως τον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου, καθώς Τα πρωτεολυτικά ένζυμα εκτιμάται ότι αποτελούν το 2% του ανθρώπινου γονιδιώματος (SouthanC., 2001).

Οι πρωτεάσες που είναι αγκυρωμένες στη μεμβράνη του πλάσματος ή που είναι διαλυτές στο εξωκυτταρικό υγρό μπορούν να διασπών τους υποδοχείς στην επιφάνεια των κυττάρων είτε για την έναρξη ή τον τερματισμό της μεταγωγής σήματος (Εικ.3). Έτσι, οι πρωτεάσες επιφανειακών κυττάρων μπορούν να απελευθερώσουν ή να δημιουργήσουν ενεργούς συνδέτες ή να υποβαθμίσουν και να απενεργοποιήσουν τους αγωνιστές των υποδοχέων. Για παράδειγμα, ο παράγοντας νέκρωσης όγκου (TNF) - το ένζυμο μετατροπής ή το TACE διασπά τον πρόδρομο του TNF- στη μεμβράνη πλάσματος, απελευθερώνοντας έτσι μια διαλυτή μορφή αυτής της προφλεγμονώδους κυτοκίνης. Με παρόμοιο τρόπο, το ένζυμο μετατροπής της αγγειοτενσίνης (ACE), το οποίο είναι επίσης μια ολοκληρωμένη μεμβρανική πρωτεΐνη, μετατρέπει την αγγειοτενσίνη I σε αγγειοτενσίνη II στο εξωκυτταρικό υγρό για να δημιουργήσει την κύρια δραστική μορφή αυτής της ορμόνης. Αντιθέτως, η ουδέτερη ενδοπεπτιδάση



Εικόνα 3) Μηχανισμοί με τους οποίους η πρωτεόλυση της κυτταρικής επιφάνειας ρυθμίζει τη μεταγωγή σήματος

υποβαθμίζει και απενεργοποιεί τη νευροπεπτιδική ουσία P (SP) κοντά στους υποδοχείς της και έτσι τερματίζει τις βιολογικές επιδράσεις του SP. Ορισμένες διαλυτές και δεσμευμένες σε μεμβράνες πρωτεάσες, διασπούν τους συζευγμένους με G πρωτεΐνες υποδοχείς (GPCRs) στην κυτταρική επιφάνεια για ενεργοποίηση ή απενεργοποίηση υποδοχέων. Για παράδειγμα, ο παράγοντας πήξης θρομβίνη διασπά τον ενεργοποιημένο με πρωτεάση υποδοχέα 1 (PAR1) σε αιμοπετάλια, ο οποίος ενεργοποιεί τον υποδοχέα για να προκαλέσει συσσωμάτωση αιμοπεταλίων και αιμόσταση. Αντίθετα, η καθεψίνη G από τα ουδετερόφιλα διασπά το PAR1 σε διαφορετική θέση από τη θρομβίνη για να δημιουργήσει έναν απενεργοποιημένο υποδοχέα που δεν μπορεί να ανταποκριθεί στη θρομβίνη, η οποία θα μπορούσε να εμποδίσει την πήξη του αίματος. Αυτά τα πρωτεολυτικά συμβάντα είναι εξαιρετικά σημαντικά για τον φυσιολογικό έλεγχο: η μετατροπή της αγγειοτενσίνης I σε αγγειοτενσίνη II είναι βασική για την ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης και όγκου, και η συσσώρευση αιμοπεταλίων που προκαλείται από θρομβίνη είναι ζωτικής σημασίας για την κανονική αιμόσταση. Ωστόσο, αυτές οι διαδικασίες παρουσιάζουν επίσης

μεγάλο ενδιαφέρον για την κατανόηση των μηχανισμών της νόσου και για την ανάπτυξη αποτελεσματικών θεραπειών. Έτσι, οι αναστολείς του ACE χρησιμοποιούνται ευρέως για τη θεραπεία της υπέρτασης και της συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας και αναπτύσσονται ανταγωνιστές των PARs για τη θεραπεία θρομβωτικών και φλεγμονωδών παθήσεων(5).

Οι πρωτεάσες και οι PAR's συμβάλλουν σημαντικά στις ασθένειες και αποτελούν στόχους για θεραπείες. Πρώτον, οι PAR's ρυθμίζουν πολλές βιολογικές διεργασίες που είναι κρίσιμες σε ασθένειες, συμπεριλαμβανομένης της πήξης, του πολλαπλασιασμού, της επιβίωσης, της φλεγμονής, της νευροδιαβίβασης και του πόνου. Δεύτερον, οι πρωτεάσες που ενεργοποιούν τους PAR's υπερεκφράζονται κατά τη διάρκεια παθολογικών καταστάσεων, για παράδειγμα, σε τραύμα, αιμόσταση, φλεγμονή και σχηματισμό όγκου. Τρίτον, η έκφραση και η λειτουργία των PAR μεταβάλλονται σε ασθένειες. Έτσι, το PAR₂ εμφανίζονται σε υψηλά επίπεδα κατά τη διάρκεια της φλεγμονής (9). Τέλος, μελέτες γενετικά τροποποιημένων ζώων και χρήση ανταγωνιστών PAR και αναστολέων πρωτεάσης υποδηλώνουν έναν ρόλο των PAR σε μοντέλα ασθενειών.

3.4 Ο ρόλος των υποδοχέων PAR στη φλεγμονή και την ανοσολογική απάντηση

Η θρομβίνη είναι μια σημαντική επιδραστική πρωτεΐνη στην διαδικασία της πήξης που οδηγεί στον σχηματισμό αιμοστατικού θρόμβου. Η θρομβίνη είναι πολύ πιθανό να δρα κοντά στον τόπο παραγωγής της και ενεργοποιείται όταν παράγοντες πήξης στο πλάσμα έρχονται σε επαφή με τον ιστικό παράγοντα. Ο ιστικός παράγοντας είναι επίσης συνδεδεμένος με την ενεργοποίηση του παράγοντα πήξης X από τον παράγοντα VIIa. Ο παράγοντας Xa σε συνεργασία με τον συμπαράγοντα του Va μετατρέπουν την προθρομβίνη σε ενεργό ένζυμο. Για αυτό το λόγο η πήξη του πλάσματος μπορεί να συμβεί μόνο όταν η αγγειακή ακεραιότητα καταστραφεί(6).

Όσο πιο πρόσφατες έρευνες αποκάλυψαν ότι η θρομβίνη δεν αποτελεί αποκλειστικά μια πρωτεάση που εμπλέκεται στην πήξη του αίματος δρώντας ως προ- και αντί-θρομβωτικό μόριο αλλά εμφανίζεται να έχει πολλαπλές δράσεις που σχετίζονται με φλεγμονή, αλλεργία, ανάπτυξη καρκινικής εστίας, μετάσταση, αναδιαμόρφωση ιστού, και πιθανόν επώλωση πληγών(6).

Η ενεργοποίηση του PAR1 στα ενδοθηλιακά κύτταρα πιθανόν να παρέχει το έναυσμα για την απελευθέρωση του vWF και η έκθεση της P-σελεκτίνης να προωθεί την προσκόλληση των αιμοπεταλίων και των λευκών αιμοσφαιρίων καθώς και την είσοδο των πρωτεϊνών του πλάσματος στο εξωκυττάριο περιβάλλον. Η θρομβίνη επίσης προκαλεί παραγωγή παραγόντων που ενεργοποιούν αιμοπετάλια, οι οποίοι είναι αποτελεσματικοί ενεργοποιητές των αιμοπεταλίων και λευκών αιμοσφαιρίων, καθώς επίσης και χημοκινών και COX2 και προσταγλανδίνες. Στα ινδικά χοιρίδια η προετοιμασία μικροαγγειακών ενδοθηλιακών κυττάρων, που ανταποκρίνονται στην θρομβίνη, ρυθμίζεται κατά ένα μικρό μέρος από τον PAR1. Επίσης ο PAR1 σε ένα μικρό ποσοστό συμμετέχει στην ανταπόκριση του ενδοθηλίου στους παράγοντες πήξης VIIa και Xa.(3)

Τα λεία μυϊκά καθώς και άλλα μεσεγχοματικά κύτταρα ανταποκρίνονται στην θρομβίνη μέσω του PAR1, ενώ η ενεργοποίηση του PAR1 σε αυτά τα κύτταρα προκαλεί παραγωγή χημοκινών και προσταγλανδινών (3). Νευρικά κύτταρα της αισθητικής οδού επίσης εκφράζουν τον PAR1, και η ενεργοποίηση του στα κύτταρα αυτά προκαλεί νευρογενή φλεγμονή με κύρια χαρακτηριστικά γνωρίσματα οίδημα και υπεραλγησία. Για το λόγο αυτό η έκφραση του PAR1 στο εσωτερικό και γύρω από το αγγειακό τοίχωμα πιθανόν να αποτελεί μέρος μιας πρώτης απάντησης που βοηθά στην σύνδεση της ιστικής βλάβης με την συσσωμάτωση αιμοπεταλίων και ενδοθηλιακών κυττάρων και κατά αυτόν τον τρόπο επιτρέπει στις πρωτεΐνες με ανοσολογική δράση να εξετάσουν την περιοχή για τυχόν βλάβη ή μόλυνση.(3)

Η μερική έλλειψη του PAR1 παρέχει προστασία ενάντια στην λευκοκυτταρική διήθηση και στην νεφρική βλάβη, ενώ η ανεπάρκεια και η ταυτόχρονη αναστολή του PAR1 οδήγησε σε μείωση των ποσοστών επαναστένωσης και αρτηριακής βλάβης.(3)Επίσης σε καλλιέργειες ενδοθηλιακών κυττάρων η ενεργοποίηση του PAR1 είναι σε θέση να προκαλέσει τοπική φλεγμονή καθώς επίσης και να προστατεύει τα ενδοθηλιακά κύτταρα από την απόπτωση.(3)

Ο PAR1 εκφράζεται ακόμα σε ινοβλάστες, μονοκύτταρα, T κύτταρα θετικά για CD8, CD16, και είτε σε CD56 είτε σε CD57, natural killer (NK),CD34, προγεννητικά αιμοποιητικά κύτταρα, οδοντικά κύτταρα πολφού, επιθηλιακά κύτταρα, κύτταρα γλοίας, μαστικά κύτταρα και καρκινικά κύτταρα (3).

Είναι επίσης σημαντικό να κατανοήσουμε τον ρόλο του PAR 2 σε φλεγμονώδεις ασθένειες . Παρατηρήσεις σε ποντίκια με ανεπάρκεια PAR 2 σε μια προκλητή αλλεργική φλεγμονή των αεραγωγών έδειξε μειωμένη διείσδυση ηωσινοφίλων και μειωμένη υπερδραστικότητα , κάτι το οποίο δεν ισχύει στα ποντίκια που εκφράζουν PAR 2. Στην ρευματοειδή αρθρίτιδα η οποία είναι μια χρόνια φλεγμονώδης κατάσταση φαίνεται να υπάρχει υπερέκφραση του ιστικού παράγοντα και της θρομβίνης καθώς και εναπόθεση της ινώδους στην προσβεβλημένη άρθρωση , κάτι που επισημαίνει την ενεργοποίηση του συστήματος πήξεως . Με την χορήγηση αναστολέα θρομβίνης -ιρουδίνη-μειώθηκε η σοβαρότητα της φλεγμονής κάτι που αξιολογήθηκε κλινικά με την μέτρηση της έκφρασης των προφλεγμονωδών κυτοκινών, παρέχοντας άμεσες ενδείξεις για την εμπλοκή της θρομβίνης στη φλεγμονή.

Οι πρωτεάσες και τα PAR μπορεί επίσης να συμβάλλουν στη νεφρική φλεγμονή. Η crescentic σπειραματονεφρίτιδα είναι μια σοβαρή και προοδευτική μορφή νεφρικής φλεγμονής που αποτελεί κοινή αιτία νεφρικής νόσου τελικού σταδίου. Συνδέεται με εναπόθεση ινώδους, υποδηλώνοντας την ενεργοποίηση των πρωτεασών πήξης. Η προκαλητή σπειραματονεφρίτιδα σε ποντίκια χαρακτηρίζεται από εναπόθεση ινώδους, διήθηση λευκοκυττάρων και μειωμένη σπειραματική διήθηση . Αυτή η φλεγμονή μειώνεται αισθητά με θεραπεία με τον αναστολέα θρομβίνης ιρουδίνη. Παρατηρήθηκε επίσης ότι η φλεγμονή μειώνεται σε ποντίκια με ανεπάρκεια PAR 1 , υποδεικνύοντας εμπλοκή των πρωτεασών πήξης και του PAR 1 .

Η παρατήρηση ότι η φλεγμονή μειώνεται σε ζώα με ανεπάρκεια των PAR υποδηλώνει ότι οι ανταγωνιστές PAR και οι αναστολείς πρωτεάσης μπορεί να είναι χρήσιμοι αντιφλεγμονώδεις παράγοντες. Πράγματι, οι αναστολείς τρυπτάσης έχουν χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία του άσθματος και της φλεγμονώδους νόσου του εντέρου στον άνθρωπο (10 , 11). Ωστόσο, πρέπει να τονιστεί ότι τα PAR μπορούν να ασκήσουν αντιφλεγμονώδη και προστατευτικά αποτελέσματα σε ορισμένες συνθήκες. Έτσι, η χορήγηση ανασυνδυασμένου APC αποκλείει την απόπτωση στα

ενδοθηλιακά κύτταρα του ανθρώπινου εγκεφάλου και είναι νευροπροστατευτική σε ένα ζωικό μοντέλο ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου(13). Επιπλέον, το APC μειώνει τη θνησιμότητα των ασθενών με σήψη (14). Αυτές οι προστατευτικές δράσεις του APC σε ενδοθηλιακά κύτταρα εξαρτώνται από το PAR₁ (12, 13). Επιπλέον, η ενεργοποίηση του PAR₂ προκαλεί βρογχοδιαστολή (15), αναστέλλει την πνευμονική ουδετεροφιλία που προκαλείται από λιποπολυσακχαρίτη (18), μειώνει το σχηματισμό γαστρικών ελκών (17) και πειραματικής κολίτιδας (16) και προστατεύει από ισχαιμία στην καρδιά (19). Έτσι, οι αγωνιστές των PAR₁ και PAR₂ θα μπορούσαν να είναι χρήσιμες θεραπείες για ορισμένες καταστάσεις.

Επίσης έχει αναφερθεί ο ρόλος των PARs στον καρκίνο καθώς Τα PAR₁ και PAR₂ εκφράζονται από ένα ευρύ φάσμα καρκινικών κυττάρων και το μικροπεριβάλλον των όγκων είναι γεμάτο με πρωτεάσες που μπορούν να ενεργοποιήσουν PARs. Τα κακοήθη κύτταρα εκκρίνουν θρομβίνη και θρυψίνη, τα οποία μπορούν να επηρεάσουν τον πολλαπλασιασμό και να προκαλέσουν μεταστατικές διεργασίες όπως κυτταρική εισβολή, αποικοδόμηση εξωκυτταρικής μήτρας, αγγειογένεση και αναδιαμόρφωση ιστού. Στους ιστούς του όγκου του μαστού οι PAR₁ & PAR₂ εκφράζονται στα κύτταρα του ίδιου του όγκου, στα μαστοκύτταρα, στους μακροφάγους, στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στα κύτταρα αγγειακού λείου μυός του μεταστατικού μικροπεριβάλλοντος του όγκου. Συγκεκριμένα, υπάρχει μια υπερβολική έκφραση των PAR₁ και PAR₂ σε πολλαπλασιαστικούς στρωματικούς ινοβλάστες που περιβάλλουν τα κύτταρα καρκινώματος. Στα κυψελιδικά τοιχώματα του πνευμονικού όγκου, η έκφραση των PAR₁ και PAR₂ mRNA αυξάνεται κατά 10- και 16 φορές, αντίστοιχα, σε σύγκριση με τους φυσιολογικούς κυψελιδικούς ιστούς. Η έκφραση της θρυψίνης ανιχνεύεται επίσης σε αυτόν τον ιστό όγκου.

Ο βαθμός έκφρασης του PAR₁ στα καρκινικά κύτταρα σχετίζεται άμεσα με το μεταστατικό δυναμικό τόσο στο πρωτοπαθές καρκίνωμα του μαστού όσο στις υπάρχουσες καρκινικές κυτταρικές σειρές (20). Η εισαγωγή του antisense DNA PAR₁ αναστέλλει την εισβολή μεταστατικών κυττάρων καρκινώματος του μαστού μέσω ανασυσταμένης βασικής μεμβράνης, υποδεικνύοντας έναν σημαντικό ρόλο για το PAR₁ στη μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων. Προς υποστήριξη αυτής της παρατήρησης, η θρομβίνη και η PAR₁- AP προάγει την εισβολή μιας πολύ επιθετικής κυτταρικής σειράς καρκίνου του μαστού που εκφράζει PAR₁ σε μια in vitro δοκιμασία (21). Η έκθεση ορισμένων καρκινικών κυττάρων σε θρομβίνη και PAR₁- AP ενισχύει επίσης την προσκόλλησή τους σε αιμοπετάλια, ινωδονεκτίνη και παράγοντα von Willebrand in vitro και προάγει πνευμονική μετάσταση όταν χορηγούνται κύτταρα σε ποντίκια ή νίνο (24, 25). Επιπλέον, η υπερέκφραση του PAR₁ σε ορισμένα καρκινικά κύτταρα μπορεί να ενισχύσει το μεταστατικό δυναμικό τους σε ζωικά μοντέλα. Στις κυτταρικές σειρές καρκίνου του παχέος εντέρου, η ενεργοποίηση του PAR₁ προκαλεί σημαντική μιτογόνο απόκριση, η οποία εξαρτάται από την ενεργοποίηση της MAP κινάσης ERK1 / 2, και επίσης διεγείρει την κινητικότητα των προσβεβλημένων κυττάρων (22). Τέλος, όλες αυτές οι παρατηρήσεις υποδηλώνουν ότι οι ανταγωνιστές του PAR₁ μπορεί να είναι χρήσιμες θεραπείες για τον πολλαπλασιασμό και μετάσταση ορισμένων όγκων. Ωστόσο, το PAR₁- AP έχει επίσης αναφερθεί ότι αναστέλλει τη μετανάστευση και την εισβολή κυτταρικών σειρών καρκίνου του μαστού. Ο PAR₂ μπορεί επίσης να συμβάλει στο σχηματισμό όγκου και στη μετάσταση, καθώς η PAR₂- AP διεγείρει τον πολλαπλασιασμό των κυτταρικών σειρών όγκου του παχέος εντέρου (23).

Η ακατάλληλη συσσωμάτωση των αιμοπεταλίων συμβάλλει σημαντικά σε αποφρακτικές αγγειακές διαταραχές όπως εγκεφαλικό επεισόδιο, στηθάγχη και έμφραγμα του μυοκαρδίου, όπου η συσσώρευση αθηροσκληρωτικών πλακών προάγει τον σχηματισμό θρόμβων που προκαλείται από αιμοπετάλια. Η θρομβίνη είναι ο κύριος μεσολαβητής της συσσώρευσης αιμοπεταλίων και της εναπόθεσης ινών, και οι αναστολείς της θρομβίνης είναι χρήσιμοι αντιθρομβωτικοί παράγοντες. Έτσι, ο ανταγωνιστής PAR 1 RWJ-58259 αναστέλλει σημαντικά το σχηματισμό θρόμβου και την απόφραξη αγγείων σε ένα μοντέλο ηλεκτρολυτικής βλάβης της καρωτιδικής αρτηρίας σε πθήκους cynomolgus.

Επίσης ο PAR₂ μπορεί να συμβάλει στο τραυματισμό που ακολουθεί την ισχαιμία και την επαναιμάτωση των ιστών (19). Η ισχαιμία και η επαναιμάτωση της καρδιάς προκαλούν τραυματισμό που χαρακτηρίζεται από γενικευμένη φλεγμονή και νέκρωση. Παρατηρείται υπερέκφραση PAR₂ σε ένα μοντέλο στεφανιαίας ισχαιμίας και επαναιμάτωσης σε αρουραίους καθώς η χορήγηση PAR₂-AP προστατεύει σημαντικά την καρδιά από τραυματισμό. Η ενεργοποίηση PAR₂ βελτιώνει επίσης την αποτελεσματικότητα της ισχαιμικής προετοιμασίας και μειώνει την καρδιακή φλεγμονή στην καρδιά του αρουραίου(26).

3.5 Ο ρόλος των υποδοχέων PAR στη νευρωνική ανάπτυξη, νευροεκφυλισμό και νευροπροστασία

Τα πρόσφατα δεδομένα τονίζουν τους σημαντικούς ρόλους των πρωτεϊνών και των παραγόντων πήξεως που ενεργοποιούν τους υποδοχείς (PARs) στην παθοφυσιολογία του νευρικού συστήματος. Η οδός ενεργοποιημένων πρωτεϊνών υποδοχέων (PARs) μπορεί να θεωρηθεί ο κεντρικός κόμβος αυτού του ρυθμιστικού δικτύου, κυρίως μέσω της θρομβίνης ή της ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C (aPC). Αυτές οι πρωτεΐνες εκτός από την πήξη έδειξαν ιδιαιτερότητες ικανές να επηρεάσουν τον πολλαπλασιασμό, τη μορφολογία και τη φυσιολογία των νευρικών κυττάρων. Οι PARs έχουν επίσης σημαντικούς ρόλους σε νευροφλεγμονώδεις και εκφυλιστικές ασθένειες όπως η σχετιζόμενη με την ανοσοανεπάρκεια άνοια, νόσος Alzheimer, Parkinson, MS, Καρκίνος και πόνος. Η πλειοτροπία αυτών των επιδράσεων παράγεται μέσω διαφορετικών υποδοχέων, που εκφράζονται σε διάφορους τύπους κυττάρων, σε δοσοεξαρτώμενο και χρονοεξαρτώμενο σχήμα. Αυτοί οι υποδοχείς θα μπορούσαν επίσης να επηρεάζουν την παθογένεση του εγκεφαλικού επεισοδίου και της πολλαπλής σκλήρυνσης, καταστάσεις στις οποίες ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός διαταράσσεται. Η ποικιλομορφία των επιδράσεων των PARs στη νευρική λειτουργία και η ευρεία διανομή τους στο νευρικό σύστημα τους καθιστούν ελκυστικούς θεραπευτικούς στόχους για νευρολογικές διαταραχές δίνοντας έμφαση στις νευροφλεγμονώδεις και εκφυλιστικές διαταραχές(2,27).

4. Παθοφυσιολογία του περιεγχειρητικού εγκεφαλικού επεισοδίου

Μπορεί το περιεγχειρητικό εγκεφαλικό επεισόδιο να είναι ασυνήθιστο κατά τη διάρκεια μιας μη αγγειακής φύσεως χειρουργικής επέμβασης, αλλά εάν συμβεί επηρεάζει αρνητικά την ανάκαμψη του ασθενούς καθώς και το λειτουργικό αποτέλεσμα. Ο αναφερόμενος κίνδυνος περιεγχειρητικού εγκεφαλικού επεισοδίου ποικίλλει ανάλογα με τον τύπο της χειρουργικής επέμβασης. Η συχνότητα εμφάνισης δεν είναι γενικά υψηλή (περίπου 0,1-1,9%) σε μη καρδιακή, μη νευρολογική και μη σημαντική χειρουργική επέμβαση (28). Ωστόσο, μπορεί να εμφανιστεί σε έως και 10% των ασθενών που υποβάλλονται σε εγχείρηση καρδιακού ή εγκεφάλου υψηλού κινδύνου (29)(Εικόνα 4). Το περιεγχειρητικό εγκεφαλικό επεισόδιο μπορεί να αναπτυχθεί διεγχειρητικά ή μετεγχειρητικά έως 30 μέρες μετά την ανάρρωση από αναισθησία. Ο εντοπισμός του περιεγχειρητικού εγκεφαλικού επεισοδίου είναι μερικές φορές δύσκολος. Η δυσκολία στην αφύπνιση από την αναισθησία μπορεί να είναι η πρώτη ένδειξη για μια κλινική υποψία περιεγχειρητικού εγκεφαλικού επεισοδίου. Η παρατεταμένη αναισθησία μπορεί να καθυστερήσει την έγκαιρη διαπίστωση νευρολογικών ελλειμμάτων σε ασθενείς. Ως εκ τούτου, είναι δύσκολο να προσδιοριστεί ο χρόνος έναρξης, ο οποίος μπορεί να περιορίσει τη χρήση θρομβολυτικής θεραπείας ή ενδοαγγειακής θρομβεκτομής (EVT), οδηγώντας κατά συνέπεια σε κακή νευρολογική έκβαση. Το περιεγχειρητικό εγκεφαλικό επεισόδιο έχει σημαντική αρνητική επίδραση στην ανάρρωση από τη χειρουργική επέμβαση. Οι ασθενείς με περιεγχειρητικό εγκεφαλικό επεισόδιο είναι λιγότερο πιθανό να έχουν καλή λειτουργική έκβαση και έχουν οκταπλάσια μεγαλύτερη θνησιμότητα σε σύγκριση με εκείνους που δεν έχουν περιεγχειρητικό εγκεφαλικό επεισόδιο [30]. Ο ορισμός του τελευταίου σύμφωνα με The Society for Neuroscience in Anesthesiology and Critical Care Consensus Statement είναι το εγκεφαλικό έμφρακτο ισχαιμικής ή αιμορραγικής αιτιολογίας, το οποίο συμβαίνει ενδοεγχειρητικά ή έως 30 ημέρες μετά την χειρουργική επέμβαση συμπεριλαμβανομένου η ανάπτυξη του εγκεφαλικού μετά την ανάνηψη από την αναισθησία (31). Σύμφωνα με μια πρόσφατη μελέτη απεικόνισης ασθενών που υποβλήθηκαν σε χειρουργική επέμβαση αορτοστεφανιαίας παράκαμψης, το ποσοστό εμφάνισης νέου εγκεφαλικού εμφράκτου ήταν την Τρίτη ημέρα μετά την επέμβαση στο 27,6%. Ωστόσο, μόνο 3,1% των ασθενών εκδήλωσαν κλινικά εμφανές εγκεφαλικό επεισόδιο (32). Στα πλαίσια κατανόησης αιτιολογικού μηχανισμού του περιεγχειρητικού εγκεφαλικού επεισοδίου διενεργήθηκε μια έρευνα 388 ασθενών οι οποίοι είχαν υποβληθεί σε CABG και είχαν υποστεί περιεγχειρητικό εγκεφαλικό επεισόδιο, σύμφωνα με αυτή την έρευνα τα εμβολικά εγκεφαλικά επεισόδια αντιστοιχούσαν στο (62,1%) των εγκεφαλικών επεισοδίων ακολουθούμενα από παλλαπλών αιτιών εγκεφαλικά στο (10,1%), υπάρδευση στο (8,8%), lacunar (3,1%), θρομβωτικά (1%), αιμορραγικά (1%) και αγνώστου αιτιολογίας εγκεφαλικά στο (13,9%)(εικόνα 5). Περίπου 45% εκ των εμβολικών και 56% της υπάρδευσης εγκεφαλικά συνέβησαν την πρώτη μετεγχειρητική μέρα (33). δεδομένου ότι το μεγαλύτερο ποσοστό αποτελούν τα εμβολικά επεισόδια, υποτιθέμενες πηγές είναι από την καρδιά λόγω προϋπάρχουσας κοιλιακής μαρμαρυγής ή νέας εμφάνισης αυτής. Όπως επίσης σημαντικό ρόλο διαδραματίζει η υψηλού βαθμού αθηρωμάτωση του αορτικού τόξου ή οι αθηροσκληρωτικές μεγάλες αρτηρίες λόγω χειραγώγησης κατά την χειρουργική επέμβαση (34). Η εμβολή λίπους ή αέρα μπορεί επίσης να αποτελεί πηγή περιεγχειρητικού εγκεφαλικού επεισοδίου σε συγκεκριμένες συνθήκες.

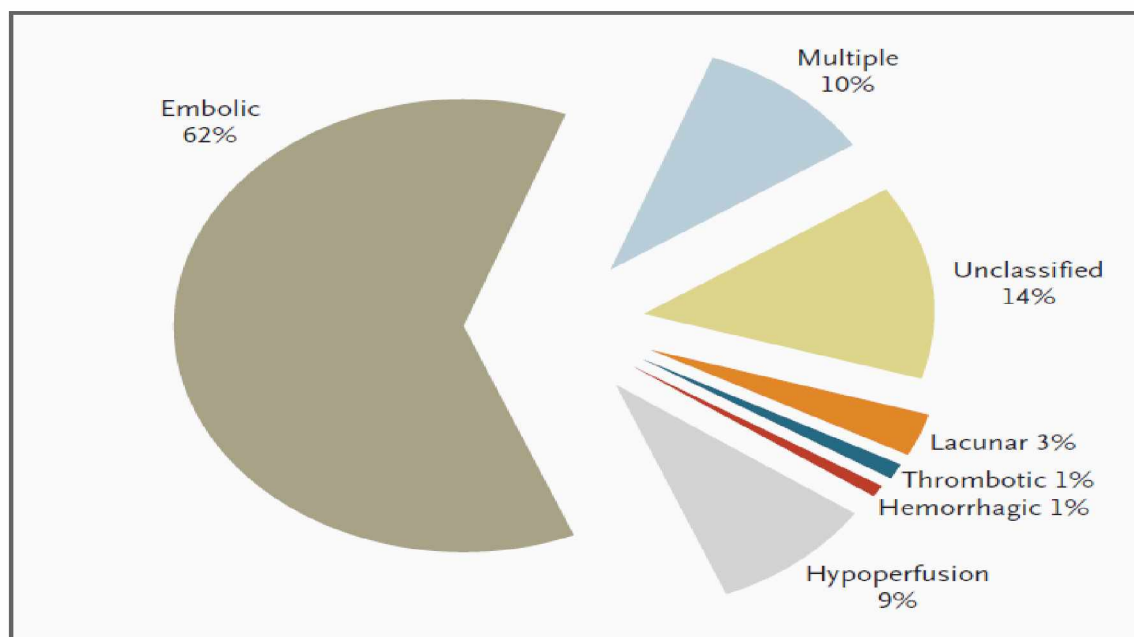
Air embolism after endoscopic procedures, intravascular interventions, and cardiopulmonary bypass
Fat embolism after orthopedic procedures
Paradoxical embolism from postoperative deep-vein thrombosis in patients with patent foramen ovale
Extracranial carotid- or vertebral-artery dissections resulting from neck manipulations and hyperextension of the neck during induction of anesthesia, neck surgery, or dental procedures
Dislodgment of arterial atherosclerotic plaques resulting from manipulations of extracranial internal carotid or vertebral arteries during neck surgeries
Spinal cord infarct after surgery to repair an abdominal aortic aneurysm

Πίνακας 1) ασυνήθη αίτια περιεγχειρητικού εγκεφαλικού επεισοδίου (29)

Η θρόμβωση αυξάνεται μετά από χειρουργικές επεμβάσεις εν μέρει λόγω συστηματικής φλεγμονής ή ενεργοποίησης της φυσιολογικής αιμοστατικής οδού (35). Επιπλέον, αυτός ο μηχανισμός μπορεί να είναι πιο έντονος σε ασθενείς που σταμάτησαν να χρησιμοποιούν αντι-θρομβωτικούς παράγοντες για να προετοιμαστούν για χειρουργική επέμβαση (36). Επομένως, η θρόμβωση φαίνεται ότι διαδραματίζει επιπλέον ρόλο σε ασθενείς με ιστορικό εγκεφαλικού επεισοδίου(37).

Produce	risk of stroke %
General Surgery	0,08_ 0,7
Peripheral vascular surgery	0,8_ 3,0
Resection of head and neck tumors	4,8
Carotid endarterectomy	5,5_ 6,1
Isolated CABG	1,4_ 3,8
Combined CABG and valve surgery	7,4
Isolated valve surgery	4,8_ 8,8
Double or triple valve surgery	9,7

Εικόνα 4) Incidence of Stroke after Various Surgical Procedures



Εικόνα 5) Mechanisms of Perioperative Stroke

Το ποσοστό της ενδοεγκεφαλικής αιμορραγίας (ICH) είναι περίπου στο 1% των περιεγχειρητικών εγκεφαλικών επεισοδίων και ποικίλει αναλόγως των επεμβάσεων που υποβάλλεται ο ασθενής όπως αυτή με την μεταμόσχευση καρδιάς που το ποσοστό της ICH αγγίζει το 2,5% , και οι προτεινόμενοι μηχανισμοί είναι η εξής : 1) η ξαφνική και ανεξέλεγκτη αύξηση της αρτηριακής πίεσεως 2) η πηκτικότητα καθώς οι περισσότεροι ασθενείς λαμβάνουν αντιθρομβωτική αγωγή 3) το σύνδρομο υπεράρδευσης μετά από επεμβάσεις στην καρωτίδα αρτηρία (carotidarterystenting , CarotidendarterectomyCEA) όπου παρατηρείται αύξηση της πίεσεως η οποία οδηγεί σε ανάπτυξη ICH .Η εντόπιση της ICH συνήθως είναι σε βαθιές δομές του εγκεφάλου (βασικά γάγγλια , θάλαμος , παρεγκεφαλίδα) (38).

Η παθογέννηση της ICH στην μεταμόσχευση περιλαμβάνει διάφορους μηχανισμούς όπως : αντιπηκτικότητα , υψηλή πίεση στην καρδιοαναπνευστική παράκαμψη , ανεξέλεγκτη αρτηριακή πίεση ή υπεραιμάτωση (39,40). Επιπλέον στην υποξεία φάση μετά την μεταμόσχευση η χρήση αναστολέων καλσινευρίνης (κυκλοσπορίνη, τακρόλιμους και πιμεκρολίμους) για ανοσοκαταστολή μπορεί να οδηγήσει σε μετέπειτα αναστρέψιμη εγκεφαλοπάθεια η οποία ενδεχομένως να καταλήξει σε ICH στους ινιακούς λοβούς (41).

Παράγοντες κινδύνου :

Οι παράγοντες κινδύνου για το περιεγχειρητικό εγκεφαλικό επεισόδιο χωρίζονται σε τροποποιήσιμους και μη παράγοντες . στους τελευταίους ανήκουν η ηλικία , το φύλο και το ιστορικό εγκεφαλικού επεισοδίου ή παροδική ισχαιμική προσβολή , καθώς ο τύπος της χειρουργικής επέμβασης (καρδαγγειακή ή νευροχειρουργική) και συγκεκριμένα ενδοεπεμβατικά συμβάντα , παραδείγματος χάριν , Μεταξύ των ασθενών που υποβλήθηκαν σε χειρουργική επέμβαση μιτροειδούς βαλβίδας, οι

παράγοντες που σχετίζονται με το περιεγχειρητικό εγκεφαλικό επεισόδιο ήταν οι εξής: ηλικία, φύλο, επείγουσα χειρουργική επέμβαση, αρρυθμίες, υπέρταση, νεφρική ανεπάρκεια, πηκτικότητα, νευρολογικές διαταραχές, απώλεια βάρους, αναιμία, μετεγχειρητική καρδιακή ανακοπή και έμφραγμα του μυοκαρδίου (42).

Η ηλικία του ασθενούς είναι σημαντικός παράγοντας για το περιεγχειρητικό εγκεφαλικό επεισόδιο καθώς αυξάνεται ο κίνδυνος κατά έξι φορές μεταξύ των οκτογενών σε σύγκριση με τους νεότερους πληθυσμούς(43,44). Μια μελέτη απεικόνισης έδειξε ότι η ηλικία είναι ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου καθώς οι μεγαλύτεροι ασθενείς ανεξαρτήτως του τύπου της επέμβασης που υποβάλλονται διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ένα περιεγχειρητικό εγκεφαλικό επεισόδιο ακόμα και σε μη καρδιαγγειακή χειρουργική επέμβαση (32), και δεδομένου ότι η μέση ηλικία των ασθενών που υποβάλλονται σε χειρουργικές επεμβάσεις θα αυξηθεί, η συχνότητα εμφάνισης περιεγχειρητικού εγκεφαλικού επεισοδίου είναι πιθανό να αυξηθεί στο μέλλον.

Το γυναικείο φύλο έχει επίσης αναγνωρισθεί ως παράγοντας κινδύνου σε καρδιαγγειακές και μη επεμβάσεις καθώς οι γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση έχουν ταχύτερη πρόοδο της αθηροσκλήρωσης(45,46). Επιπλέον, οι ασθενείς με ιστορικό παροδικού ή εγκατεστημένου εγκεφαλικού επεισοδίου έχουν αυξημένο κίνδυνο για περιεγχειρητικό εγκεφαλικό επεισόδιο (47).

Επιπροσθέτως το ιστορικό ημικρανίας θεωρείται παράγοντας κινδύνου για περιεγχειρητικό εγκεφαλικό επεισόδιο καθώς σύμφωνα με πρόσφατη μελέτη (124,558 χειρουργημένοι ασθενείς μέσης ηλικίας 52,6 ετών · 54,5% γυναίκες) το ποσοστό ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου σε αυτόν τον πληθυσμό ήταν 0,6%. Μεταξύ αυτών, οι ασθενείς με ιστορικό ημικρανίας με αύρα είχαν υψηλότερο OR για περιεγχειρητικό ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο (OR, 2,61, 95% CI, 1,59-4,29) σε σύγκριση με εκείνους που δεν είχαν ιστορικό ημικρανίας.

Άλλος ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου που αποτελεί συχνό εύρημα είναι η στένωση καρωτίδας καθώς απαντάται συχνά στους ασθενείς που υποβάλλονται σε CABG λόγω της αθηροσκλήρωσης. η σοβαρή στένωση καρωτίδων ενδεχομένως να προκαλεί μειωμένη αιμάτωση του εγκεφάλου και μπορεί να είναι πηγή εγκεφαλικής εμβολής σε ασθενείς που υποβάλλονται σε μια χειρουργική επέμβαση, γεγονός που σε κάποιες περιπτώσεις συστήνεται η θεραπεία της στένωσης προτού διενεργηθεί η συγκεκριμένη χειρουργική επέμβαση. Ωστόσο, μια άλλη μελέτη έδειξε ότι οι ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ταυτόχρονη χειρουργική επέμβαση καρωτίδας και καρδιάς είχαν υψηλότερο κίνδυνο να υποστούν ένα περιεγχειρητικό εγκεφαλικό επεισόδιο συγκριτικά με αυτούς που δεν υποβλήθηκαν σε επέμβαση της καρωτίδας (48,49). Παρόλα αυτά, ακόμη και με σοβαρή καρωτιδική στένωση, ο χρόνος και η ανάγκη για επαναγγείωση της καρωτίδας πριν από τη χειρουργική επέμβαση θα πρέπει να εξετασθούν, με βάση το πόσο επείγον είναι το χειρουργείο, το αγγειακό απόθεμα στο ημισφαίριο της στενωμένης καρωτίδας και την παρουσία ή απουσία συμπτωμάτων που σχετίζονται με την στένωση καρωτίδας.

Πίνακας 2: παράγοντες κινδύνου περιεγχειρητικού εγκεφαλικού (29)

Preoperative (patient-related) risk factors

Advanced age (>70 yr)*

Female sex

History of hypertension, diabetes mellitus, renal insufficiency (creatinine, >2 mg/dl [177 μmol/liter]), smoking, chronic obstructive pulmonary disease, peripheral vascular disease, cardiac disease (coronary artery disease, arrhythmias, heart failure), and systolic dysfunction (ejection fraction, <40%) †

History of stroke or transient ischemic attack

Carotid stenosis (especially if symptomatic)

Atherosclerosis of the ascending aorta (in patients undergoing cardiac surgery)

Abrupt discontinuation of antithrombotic therapy before surgery

Intraoperative (procedure-related) risk factors

Type and nature of the surgical procedure

Type of anesthesia (general or local)

Duration of surgery and, in cardiac procedures, duration of cardiopulmonary bypass and aortic cross-clamp time

Manipulations of proximal aortic atherosclerotic lesions

Arrhythmias, hyperglycemia, hypotension, or hypertension

Postoperative risk factors

Heart failure, low ejection fraction, myocardial infarction, or arrhythmias (atrial fibrillation)

Dehydration and blood loss

Hyperglycemia

* Age itself does not predict the risk of stroke, and the 70-year cutoff is arbitrary. However, advanced age is a marker of decreased cerebrovascular reserve and multiple coexisting conditions.

† The effect of systolic dysfunction on the risk of perioperative stroke is particularly pronounced among patients undergoing left-main-stem revascularization and those with atrial fibrillation.

Κεφάλαιο 2

ΣΚΟΠΟΣ

Ο σκοπός αυτής της έρευνας είναι η δια της ανασκόπησης της διεθνούς βιβλιογραφίας αναζήτηση των χαρακτηριστικών των PAR'S και της ενδεχόμενης επίδρασης αυτών των υποδοχέων σε κάποιες καταστάσεις του εγκεφάλου όπως η περιεγχειρητική ισχαιμία .

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Πραγματοποιήθηκε αναζήτηση της σχετικής αρθρογραφίας στην βάση δεδομένων ιατρικής βιβλιογραφίας του pubmed με αντικείμενο ο ρόλος των PAR'S στο περιεγχειρητικό εγκεφαλικό επεισόδιο . Ως λέξεις κλειδιά χρησιμοποιήθηκαν στην αγγλική γλώσσα οι όροι “ Protease-activatedreceptors “,

“Periopertavie stroke” , “ thrombin “ , “ par's in nerve system “ ,”stroke” Embolism; Hemorrhage; Ischemia;.

Επιλέχθηκαν άρθρα δημοσιευμένα στην αγγλική γλώσσα με βαρύτητα στα άρθρα ανασκόπησης (review). Συμπεριλήφθηκαν δημοσιεύσεις της τελευταίας δεκαετίας χωρίς ωστόσο να αποκλεισθούν παλιότερες δημοσιεύσεις με συχνές αναφορές στη βιβλιογραφία .

Κεφάλαιο 3

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ανευρέθηκαν συνολικά περισσότερα από 1000 άρθρα, που αντιστοιχούσαν στις λέξεις - κλειδιά, μεταξύ των ετών 1991 έως σήμερα, με αξιοσημείωτο κενό στην βιβλιογραφία όσον αφορά στην συσχέτιση μεταξύ των PAR's και του περιεγχειρητικού εγκεφαλικού επεισοδίου. Οι περισσότερες μελέτες διερευνούσαν ουσιαστικά τον ρόλο των PAR'S στην εγκεφαλική λειτουργία χωρίς ωστόσο ένα σαφές αποτέλεσμα καθώς κατακλήγανε στον διπλό ρόλο αυτών των υποδοχέων και στην σημαντικότητα εκμετάλλευσης αυτών προς όφελος της ανθρωπότητας καθώς θεωρούνται αξιόλογοι φαρμακευτικοί στόχοι.

Μία πολύ πρόσφατη πολυκεντρική δοκιμή φάσης 2 κατέδειξε την εμπλοκή του PAR 1 και μιάς ανασυνδυασμένης παραλαγής της ανθρώπινης ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C (3K3A-APC) στην θεραπεία μέτριας έως σοβαρής βαρύτητας οξέως εγκεφαλικού επεισοδίου σε συνδυασμό με ιστικό ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (tPA) ή μηχανική θρομβεκτομή ή και των δυο.

Η NeuronextRHAPSODY μελέτησε 110 ασθενείς μέσης ηλικίας 64 ετών, που πληρούσαν τα κριτήρια οξέως εγκεφαλικού επεισοδίου με NIHSS > 5 για την χρονική περίοδο Ιανουαρίου 2015 - Ιουλίου 2017. Το ανώτερο όριο ηλικίας ήταν 90 έτη και το ανώτερο χρονικό όριο για την έναρξη του φαρμάκου ήταν 90-120 λεπτά.

Από τα 110 εγγεγραμμένα άτομα, 44 τυχαιοποιήθηκαν σε εικονικό φάρμακο και 66 σε 3K3A-APC.

Το 3K3A-APC χορηγήθηκε ως ενδοφλέβια έγχυση 100 ml επί 15 λεπτά κάθε 12 ώρες (\pm 1 ώρα) για 5 δόσεις. Το φάρμακο μελέτης (3K3A-APC ή εικονικό φάρμακο) ξεκίνησε το νωρίτερο 30 λεπτά μετά το τέλος της έγχυσης rt-PA, για λόγους ασφαλείας, και το αργότερο 120 λεπτά μετά την ολοκλήρωση της έγχυσης rt-PA ή την έναρξη μηχανικής θρομβεκτομής, όποιο συνέβη νωρίτερα.

Οι ασθενείς ήταν υπο παρακολούθηση για 48 ώρες για πιθανή τοξικότητα λόγω του φαρμάκου, μετά οι ασθενείς εξετάζονταν την 7^η, 14^η, 30^η και 90^η μέρα. Σαρώσεις μαγνητικής τομογραφίας πραγματοποιήθηκαν την 7^η, 30^η και 90^η μέρα για πιθανή αιμορραγική μετατροπή.

Τα κυριότερα σημεία αυτής της τυχαιοποιημένης μελέτης ήταν ότι όλες οι βαθμίδες δόσεων 3K3A-APC ήταν καλά ανεκτές και η υψηλότερη ανεκτή δόση, 540 µg/kg, συσχετίστηκε με ένα αποδεκτό ποσοστό τοξικότητας 7% που δεν ήταν στατιστικά διαφορετικό από το εικονικό φάρμακο. Τα ποσοστά ανεπιθύμητων ενεργειών ήταν αποδεκτά σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο σε όλες τις βαθμίδες δόσης. Το ποσοστό της ενδοεγκεφαλικής αιμορραγίας δεν ήταν αυξημένο στους ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με 3K3A-APC. Σε διερευνητική ανάλυση, το ποσοστό και το μέγεθος της αιμορραγίας μειώθηκαν στην ομάδα 3K3A-APC, σε σύγκριση με το

εικονικό φάρμακο, αλλά η επιβεβαίωση αυτού του ευρήματος θα απαιτήσει μεγαλύτερη κλινική δοκιμή.

1. Ο διπλός ρόλος των υποδοχέων PAR στην νευροπαθολογία

Το σύμπλοκο πρωτεΐνωση/PAR είναι διαπλεκόμενο σε διαδικασίες νευρικού επιβίωσης και θανάτου που εξαρτώνται από την συγκέντρωση της θρομβίνης, καθώς έχει αναφερθεί θάνατος των αστροκυττάρων κατόπιν έκθεσης σε υψηλές συγκεντρώσεις της θρομβίνης

(> 500 Nm). Επίσης αυξανόμενη δραστηριότητα των RhoA, οικογένεια που ανήκει σε G πρωτεΐνες, έχει ανιχνευθεί σε θάνατο των νευρώνων του υπόκαμπτου προκαλούμενο μέσω θρομβίνης. Η αυξημένη δραστηριότητα της τυροσίνης κινάσης με επακόλουθο την υπερενεργοποίηση των RhoA έχει αποδεχθεί ότι προκαλεί μέσω της θρομβίνης θάνατο των αστροκυττάρων.

Οι PARs μεσολαβούν τον νευρικό και αστροκυτταρικό θάνατο καθώς εμπλέκεται και η απόπτωση των κυττάρων, ένα συχνά παρατηρούμενο φαινόμενο σε οξείες και χρόνιες παθολογίες του ΚΝΣ.

Το σύστημα πρωτεΐνωση-PAR μπορεί να προκαλεί κυτταρικό τραυματισμό ή θάνατο των νευρώνων μέσω διαφορετικών μονοπατιών. Η διέγερση των κυττάρων των αστροκυττάρων μέσω της θρομβίνης ή του πεπτιδίου ενεργοποίησης του PAR1 οδήγησε σε υπερέκκριση των δεικτών φλεγμονής ιντερλευκίνη-1β και της συνθάσης νιτρικού διοξειδίου (52), το υπερκείμενο των οποίων ήταν νευροτοξικό στους εμβρυϊκούς νευρώνες του ανθρώπου, μια επίδραση που αναστάλη μέσω ανταγωνιστών των υποδοχέων NMDA.

Η εμφύτευση συνθετικών πεπτιδίων που ενεργοποιούν το PAR 1 οδήγησε σε σημαντικό βαθμό φλεγμονή, γεγονός το οποίο αναδείχθηκε ως επί αστρογλοΐωσης, αυξημένης ανοσοαντιδραστικότητας των μακροφάγων και μικρογλοιακών δεικτών (50), καθώς και διαταραχές νευρο-συμπεριφοράς.

Στις καλλιέργειες μικρογλοιακών κυττάρων, η διέγερση που πραγματοποιήθηκε μέσω θρομβίνης οδήγησε σε πολλαπλασιασμό των μικρογλοιακών κυττάρων και απελευθέρωση φλεγμονωδών κυτοκινών (51), γεγονός που υποστηρίζει την συνεισφορά της ενεργοποίησης του PAR 1 σε αυτά τα αποτελέσματα στα μικρογλοία (52). Συγκεκριμένα η ενεργοποίηση του PAR 1 στα μικρογλοία προκαλεί αύξηση των ενδοκυττάρων συγκεντρώσεων του ασβεστίου και παροδική ενεργοποίηση p38 και p44/42 MAP κινάσης, επίσης επάγει τον πολλαπλασιασμό και την έκφραση CD40 καθώς και την παραγωγή του παράγοντα tumour-necrosis-α (52). Όλα αυτά τα ευρήματα υπογραμμίζουν τις νευροπαθογεννητικές ιδιότητες της επιλεκτικής ενεργοποίησης του PAR1.

Αντιστρόφως ωστόσο, η παρουσία χαμηλών και μέτριων συγκεντρώσεων της θρομβίνης αποδείχθηκε νευροπροστατευτική σε καταστάσεις στέρησης γλυκόζης και οξειδωτικού stress στα αστροκύτταρα αντίστοιχα, και σε υψηλές συγκεντρώσεις η θρομβίνη προάγει την επιβίωση των νευρώνων του υπόκαμπτου σε καταστάσεις στέρησης γλυκόζης ή αυξητικού παράγοντα. Αυτά τα αποτελέσματα αυτά μπορούν να επιτευχθούν μέσω πεπτιδίων αγωνιστών του PAR1(53). Η συμμετοχή της κινάσης τυροσίνης και η δραστηριότητα της RhoA στην επαγόμενη μέσω θρομβίνης κυτταρική προστασία δεν μπορεί να αποκλειστεί εισάγοντας ομοιότητες ανάμεσα στα μονοπάτια

θανάτου και προστασίας (54). Στα πειραματικά μοντέλα εγκεφαλικής ισχαιμίας έχει αποδειχθεί η νευροπροστατευτική δράση της θρομβίνης ειδικά σε μοντέλα εκτεταμένης ισχαιμίας όπου παίζει σημαντικό ρόλο νευροπροστασίας εφαρμόζοντας προηγούμενες ασκήσεις πιο ήπιας ισχαιμίας προετοιμάζοντας τον εγκέφαλο και ενισχύοντας την ανοχή του στην επακόλουθη πιο σοβαρή ισχαιμία προαναγγέλλοντάς την (55). στην ίδια μελέτη ωστόσο, η έγχυση ηρουδίνης –αναστολέα θρομβίνης – αμέσως μετά την αιφνίδιας ενάρξεως οξεία ισχαιμία αποδείχθηκε προστατευτική τονίζοντας την παθογόνο δράση της θρομβίνης.

Η ενεργοποίηση του PAR2 σε κύτταρα ιππόκαμπου αρουραίου οδηγεί επίσης σε νευρωνικό θάνατο. Υψηλές συγκεντρώσεις (> 100 μM) πεπτιδίου αγωνιστή του PAR2 μειώνει την επιβίωση των νευρώνων έως και 30-40%, αποτέλεσμα παράλληλο με την αύξηση των ενδοκυτταρικών συγκεντρώσεων ασβεστίου (2).

2. Θεραπεία

Η ενδοφλέβια θρομβολυτική θεραπεία : Το ιστορικό μείζονος χειρουργικής επέμβασης εντός 14 ημερών αποτελεί κριτήριο αποκλεισμού για τη χορήγηση ιστικού ενεργοποιητή πλασμινογόνου (tPA) λόγω του κινδύνου αιμορραγίας (56). Επομένως, ακόμη και με σαφή εμφάνιση συμπτωμάτων, είναι δύσκολο να χρησιμοποιηθεί ενδοφλέβια tPA σε ασθενείς με περιεγχειρητικό εγκεφαλικό επεισόδιο. Μια πρόσφατη αναδρομική μελέτη συνέκρινε την αποτελεσματικότητα της χρήσης off-label της tPA σε ασθενείς με περιεγχειρητικό εγκεφαλικό επεισόδιο (57). Μεταξύ των 134 ασθενών που έλαβαν θεραπεία με tPA, το 37% είχε πρόσφατη χειρουργική επέμβαση εντός 10 ημερών και το 64% είχε σημαντική χειρουργική επέμβαση. Μετά τη θεραπεία με IV tPA, το 7% των ασθενών είχε αιμορραγία, η οποία ήταν σοβαρή στο 3% των ασθενών, αλλά δεν υπήρξαν θάνατοι. το ποσοστό της ενδοκρανιακής αιμορραγίας ήταν 9,7%, αλλά όλες οι περιπτώσεις ήταν ασυμπτωματικές και όχι σοβαρές. Αυτά τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η χορήγηση IV tPA συσχετίστηκε με υψηλό κίνδυνο αιμορραγίας στο σημείο της χειρουργικής επέμβασης. Έτσι, η χρήση του tPA θα πρέπει να εξατομικεύεται με βάση τον κίνδυνο και το όφελος της θεραπείας σε συγκεκριμένους ασθενείς.

Η Ενδοαρτηριακή μηχανική θρομβεκτομή (EVT) αποτελεί τον ακρογωνιαίο λίθο στην θεραπευτική αντιμετώπιση των ασθενών με ισχαιμία πρόσθιας κυκλοφορίας με απόφραξη μεγάλων καθώς οδήγησε σε αποτελεσματική επαναιμάτωση και καλύτερη κλινική έκβαση, χωρίς επιπλέον κίνδυνο αιμορραγικής επιπλοκής (58). Έτσι, το EVT θεωρείται ως θεραπευτική επιλογή για το περιεγχειρητικό εγκεφαλικό επεισόδιο. Μια άλλη μελέτη επικεντρώθηκε στο ποσοστό επιτυχίας της διαδικασίας EVT σε ασθενείς με περιεγχειρητικό εγκεφαλικό επεισόδιο (59). Οι ασθενείς με περιεγχειρητικό εγκεφαλικό επεισόδιο είχαν παρόμοια ποσοστά επαναιμάτωσης και επιπλοκών στη διαδικασία, σε σύγκριση με τους ασθενείς χωρίς περιεγχειρητικό εγκεφαλικό επεισόδιο. Ωστόσο, η λειτουργική έκβαση και τα ποσοστά θνησιμότητας ήταν σημαντικά χειρότερα σε ασθενείς με περιεγχειρητικό εγκεφαλικό επεισόδιο.

Η χρήση ενδοφλέβιας μη κλασματοποιημένης ηπαρίνης δεν αποτελεί τυπική θεραπευτική επιλογή, ακόμη και για καρδιοεμβολικό εγκεφαλικό επεισόδιο. Η χορήγηση μη κλασματοποιημένης ηπαρίνης δεν οδηγεί σε καλύτερη διάνοιξη των αποφραγμένων αγγείων (60). Θα μπορούσε επίσης να αυξήσει τις αιμορραγικές επιπλοκές ή θρομβοπενία που προκαλείται από ηπαρίνη. Δεδομένου του υψηλού κινδύνου αιμορραγικής επιπλοκής, η χρήση ενδοφλέβιας ηπαρίνης δεν συνιστάται για το περιεγχειρητικό εγκεφαλικό επεισόδιο.

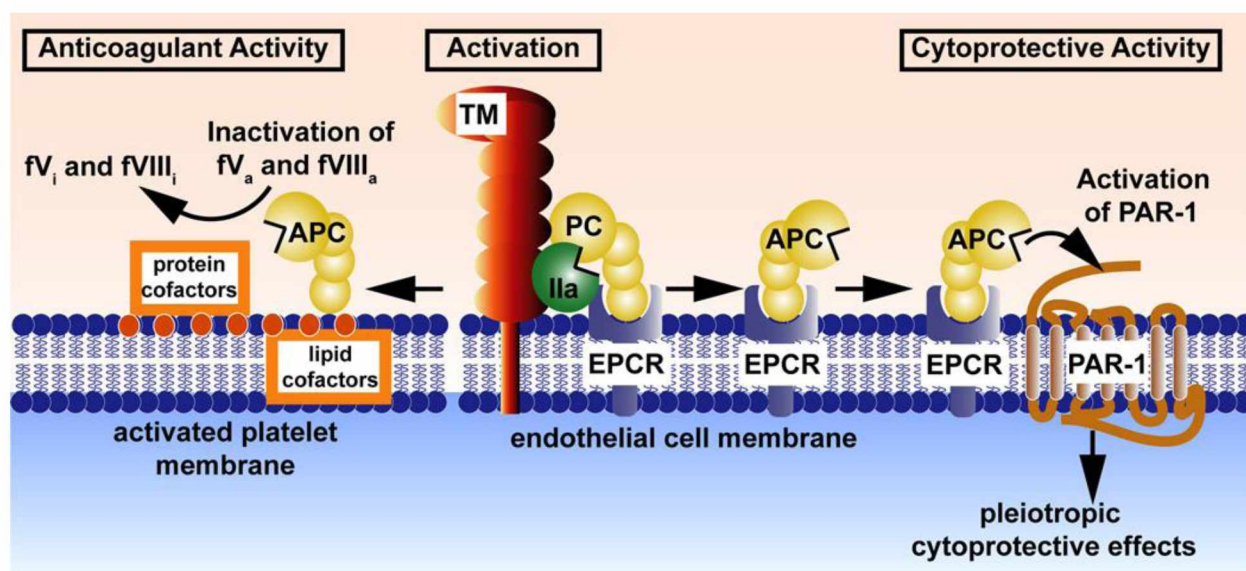
Κεφάλαιο 4

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Το ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο είναι η πιο διαδεδομένη αιτία αναπηρίας και η κύρια αιτία θανάτου στις ανεπτυγμένες χώρες καθώς συνεχίζει να αποτελεί ένα μείζον πρόβλημα δημόσιας υγείας παρά τις σημαντικές προόδους στην αντιμετώπιση, θεραπεία και πρόληψη. Η πιο ισχυρή εγκεκριμένη θεραπεία για το οξύ εγκεφαλικό επεισόδιο είναι η θεραπεία με θρομβολυτικά φάρμακα όπως ο ιστικός ενεργοποιητής πλασμινογόνου (rt-PA ή tPA) ή η ενδοαγγειακή μηχανική θρομβεκτομή. Παρόλο που η tPA και η θρομβεκτομή είναι ευρέως διαθέσιμες, σήμερα εκτιμάται ότι μόνο το 10-20% των ασθενών με εγκεφαλικό επεισόδιο λαμβάνουν θεραπεία με tPA, παρά το γεγονός ότι τα κριτήρια επιλογής έχουν χαλαρώσει, επιτρέποντας σε περισσότερους ασθενείς να πληρούν τις προϋποθέσεις. Το σχετικά χαμηλό ποσοστό θεραπείας μπορεί επίσης να αντικατοπτρίζει τον αντιληπτό κίνδυνο ενδοεγκεφαλικής αιμορραγίας μετά από θεραπεία με tPA. Σύμφωνα με πολυκεντρική μελέτη, Οι στοχευμένες θεραπείες με (PAR-1) που χορηγούνται μαζί με θρομβόλυση και θρομβεκτομή φαίνεται να μειώνουν τον αιμορραγικό μετασχηματισμό δίνοντας ελπίδες και ταυτόχρονα θάρρος στους γιατρούς προς χρήση θρομβολυτικής θεραπείας. Όλες αυτές οι τακτικές βασίστηκαν σε επιστημονικές αρχές και προκλινικά δεδομένα, ωστόσο καμία υποψήφια κυτταροπροστατευτική θεραπεία δεν έχει μπει επιτυχώς στην κλινική πράξη. Είναι πλέον σαφές ότι οι παράγοντες απλής δράσης και ενός στόχου αποτυγχάνουν να θεραπεύσουν το εγκεφαλικό επεισόδιο επειδή η ισχαιμία προκαλεί συνδυασμό παθολογικών οδών που προχωρούν παράλληλα και βλάπτουν τον νευρικό ιστό.

Πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει ευεργετικά αποτελέσματα της ενεργοποιημένης πρωτεΐνης C (APC) σε μοντέλα εγκεφαλικού επεισοδίου τρωκτικών. Εκτός από τις φυσικές αντιπηκτικές του λειτουργίες, η APC μεταφέρει πολλαπλές άμεσες κυτταροπροστατευτικές επιδράσεις σε πολλούς διαφορετικούς τύπους κυττάρων που περιλαμβάνουν πολλαπλούς υποδοχείς συμπεριλαμβανομένου του (PAR) 1, PAR3 και του ενδοθηλιακού υποδοχέα πρωτεΐνης C (EPCR). Η εφαρμογή μοριακών μηχανικών παραλλαγών APC με τροποποιημένα προφίλ επιλεκτικότητας σε μοντέλα εγκεφαλικών επεισοδίων τρωκτικών έδειξε ότι τα ευεργετικά αποτελέσματα του APC απαιτούν πρωτίστως τις κυτταροπροστατευτικές του δραστηριότητες αλλά όχι τις αντιπηκτικές του δραστηριότητες. Η εκτεταμένη βασική, προκλινική και κλινική έρευνα έδωσε μια συναρπαστική λογική βασισμένη σε ισχυρά στοιχεία για μετάφραση της θεραπείας APC που οδήγησε στην κλινική ανάπτυξη της κυτταροπροστατευτικής-επιλεκτικής παραλλαγής APC, 3K3A-APC, για το ισχαιμικό

εγκεφαλικό επεισόδιο. Η πρόσφατη ανακάλυψη της επιλεκτικής «μη κανονικής» ενεργοποίησης PAR1 και PAR3 από το APC που δημιουργεί νέους συνδεδεμένους συνδέτες ικανοί να προκαλέσουν κυτταροπροστατευτική σηματοδότηση σε αντίθεση με την κανονική ενεργοποίηση παρέχει μια μηχανιστική εξήγηση για το πώς η ενεργοποίηση του PAR με τη μεσολάβηση APC μπορεί να προκαλέσει επιλεκτικά κυτταροπροστατευτικές οδούς σηματοδότησης. (εικόνα 6)



Εικόνα 6) Το σύστημα πρωτεΐνης C

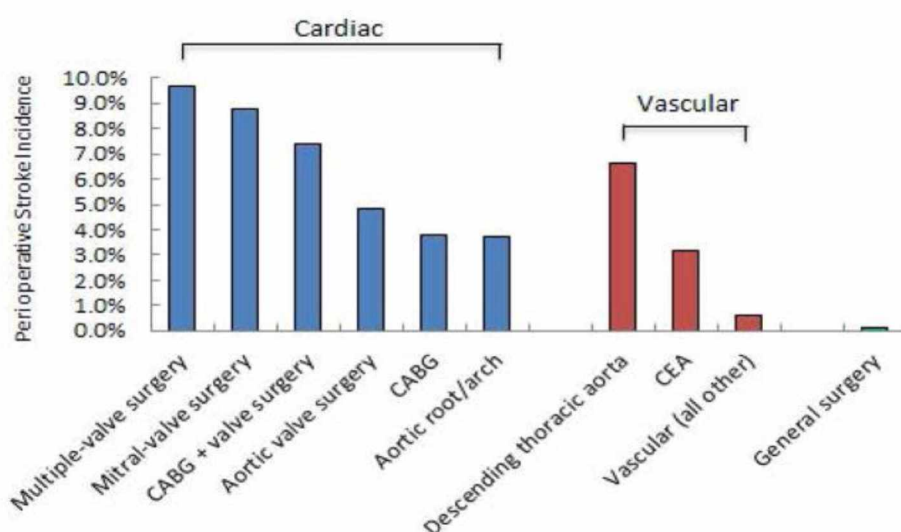
Απεικονίζονται η ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C (μέση) και τα αντιπηκτικά (αριστερά) και τα κυτταροπροστατευτικά (δεξιά) μονοπάτια πρωτεΐνης C. Η αποτελεσματική ενεργοποίηση του ζυμογόνου πρωτεΐνης C (κίτρινο) (στο μέσο του σχήματος) από τη θρομβίνη (IIa) (πράσινο) απαιτεί θρομβομοδουλίνη (TM) (κόκκινο) και τον ενδοθηλιακό υποδοχέα πρωτεΐνης C (EPCR) (μπλε). Η διατήρηση του APC που συνδέεται με το EPCR επιτρέπει στο APC να εκφράζει πολλαπλές κυτταροπροστατευτικές δραστηριότητες (δεξιά πλευρά του σχεδίου) που περιλαμβάνουν το PAR-1. Αυτές οι κυτταροπροστατευτικές δραστηριότητες περιλαμβάνουν αντι-φλεγμονώδεις και αντι-αποπτωτικές δραστηριότητες που μεσολαβούν από APC, αλλοιώσεις των προφίλ γονιδιακής έκφρασης και προστασία των ενδοθηλιακών λειτουργιών φραγμού.

Επομένως η ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C πλην της ισχυρής αντιπηκτικής δράσης λόγω της ικανότητάς του να αδρανοποιεί τους παράγοντες Va και VIIIa, παρέχει και πολλαπλές άμεσες επιδράσεις στα αγγειακά κύτταρα που είναι ανεξάρτητα από την αντιπηκτική δράση του. Αυτές οι άμεσες επιδράσεις στα κύτταρα αναφέρονται συλλογικά ως κυτταροπροστατευτικές δραστηριότητες APC και γενικά περιλαμβάνουν αντι-αποπτωτικές και αντιφλεγμονώδεις δραστηριότητες, μεταβολές των προφίλ γονιδιακής έκφρασης και προστασία και σταθεροποίηση της ενδοθηλιακής λειτουργίας του αιματοεγκεφαλικού φραγμού.

Μέχρι σήμερα η πιο ασφαλής αντιμετώπιση ενός περιεγχειρητικού εγκεφαλικού επεισοδίου είναι η μηχανική θρομβοεκτομή λόγω του φόβου δημιουργίας ενδοεγκεφαλικής αιμορραγίας χρησιμοποιώντας θρομβολυτικά φάρμακα, τα καινούργια αυτά δεδομένα ενθαρρύνουν τους γιατρούς για χρήση αυτών των φαρμάκων βέβαια με εξατομίκευση και συνέπεια και με ιδιαίτερη προσοχή στην

πρόληψη και στους παράγοντες κινδύνου καθώς ο κίνδυνος για περιεγχειρητικό εγκεφαλικό επεισόδιο μπορεί να διαφέρει ανάλογα με τους παράγοντες κινδύνου του ασθενούς, τον τύπο της χειρουργικής επέμβασης ή την διεγχειρητική υπόταση ή υποξία. Επομένως, απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή για ασθενείς υψηλού κινδύνου που υποβάλλονται σε καρδιαγγειακή ή νευροχειρουργική επέμβαση.

Μια κριτική εκτίμηση των ενδείξεων και ο χρόνος της επέμβασης είναι ζωτικής σημασίας για την πρόληψη επαναλαμβανόμενων εγκεφαλικών επεισοδίων σε πληθυσμό ασθενών με ιστορικό εγκεφαλικού επεισοδίου. Είναι σημαντικό να τονισθεί ότι η εξατομικευμένη διαχείριση της αρτηριακής πίεσης είναι απαραίτητη για τη βελτιστοποίηση της εγκεφαλικής αιμάτωσης κατά την περιεγχειρητική περίοδο. Η επίπτωση του περιεγχειρητικού εγκεφαλικού επεισοδίου σχετίζεται με το είδος και την περιπλοκότητα της χειρουργικής επέμβασης (εικόνα 7)



Εικόνα 7) συχνότητα περιεγχειρητικού εγκεφαλικού επεισοδίου .

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Το περιεγχειρητικό εγκεφαλικό επεισόδιο είναι ασυνήθιστο αλλά προφανώς ανεπιθύμητο και μπορεί να είναι καταστροφικό σε κάποιες περιπτώσεις ασθενών . Για αυτό η έγκαιρη διάγνωσή του παίζει κρίσιμο ρόλο δεδομένου της κατάστασης των ασθενών που ενδεχομένως βρίσκονται υπό γενική αναισθησία και μπορεί να καθυστερήσουν να αφυπνίσουν .

Η επίπτωση του περιεγχειρητικού εγκεφαλικού επεισοδίου γίνεται μεγαλύτερη έως και 10 % σε υψηλού διεγχειρητικού κινδύνου επεμβάσεις κυρίως καρδιοχειρουργικές και νευροχειρουργικές .

Η εγκεφαλική απεικόνιση έχει εξέχοντα ρόλο στην ανίχνευση εγκεφαλικών εμφράκτων ή και αιμορραγικών στοιχείων .

Η πρόληψη απαιτεί εξατομικευμένη προσέγγιση και περιλαμβάνει τον αυστηρό έλεγχο των κλασικών παραγόντων κινδύνου.

Η συνεχιζόμενη έρευνα στο πεδίο των παθογενετικών μηχανισμών των PAR'S, θα συμβάλει στην ανάπτυξη νέων μοριακών θεραπειών .

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Korean J Anesthesiol. 2018 Feb; 71(1): 3–11. Published online 2018 Feb 1. doi: 10.4097/kjae.2018.71.3
2. Proteinase-activated receptors in the nervous system Farshid Noorbakhsh¹, Nathalie Vergnolle, Morley D Hollenberg, Christopher Power
3. Shaun R. Coughlin. Protease-activated receptors in hemostasis, thrombosis and vascular biology, Journal of Thrombosis and Haemostasis, 3:1800–1814, 2005
4. Shaun R. Coughlin. Thrombin signalling and protease-activated receptors, Nature 407, 258-264, doi:10.1038/35025229, 2001
5. S Valeria. and Nigel W Bunnett., Protease-Activated Receptors: Contribution to Physiology and Disease, Physiol Rev 84: 579–621, 2004; 2003
6. 6) Steinhoff Martin, Buddenkotte Jörg, Shpacovitch Victoria, Rattenholl Anke, Moormann Corinna, Vergnolle Nathalie, Luger A. Thomas, and Hollenberg D Morley., Proteinase-Activated Receptors: Transducers of Proteinase-Mediated Signaling in Inflammation and Immune Response,

7. *Endocrine Reviews* 26(1):1–43, 2006
8. Protease-Activated Receptors in Neuronal Development, Neurodegeneration, and Neuroprotection: Thrombin as Signaling Molecule in the Brain *Neuroscientist* 2004 10: 501
9. Tanuja Rohatgi, Fariba Sedehizade, Klaus G. Reymann and Georg Reiser
10. Physiology, pharmacology, and therapeutic potential of protease-activated receptors in vascular disease Hannah Lee, Justin R. Hamilton *
11. Australian Centre for Blood Diseases, Monash University, Melbourne, Australia
12. Nystedt S, Ramakrishnan V, and Sundelin J. The proteinase-activated receptor 2 is induced by inflammatory mediators in human endothelial cells. Comparison with the thrombin receptor. *J Biol Chem* 271: 14910–14915, 1996
13. Krishna MT, Chauhan A, Little L, Sampson K, Hawksworth R, Mant T, Djukanovic R, Lee T, and Holgate S. Inhibition of mast cell tryptase by inhaled APC 366 attenuates allergen-induced late-phase airway obstruction in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 107: 1039–1045, 2001
14. Tremaine WJ, Brzezinski A, Katz JA, Wolf DC, Fleming TJ, Mordenti J, Strenkoski-Nix LC, and Kurth MC. Treatment of mildly to moderately active ulcerative colitis with a tryptase inhibitor (APC 2059): an open-label pilot study. *Aliment Pharmacol Ther* 16: 407–413, 2002
15. Riewald M, Petrovan RJ, Donner A, Mueller BM, and Ruf W. Activation of endothelial cell protease-activated receptor 1 by the protein C pathway. *Science* 296: 1880–1882, 2002
16. Cheng T, Liu D, Griffin JH, Fernandez JA, Castellino F, Rosen ED, Fukudome K, and Zlokovic BV. Activated protein C blocks p53-mediated apoptosis in ischemic human brain endothelium and is neuroprotective. *Nat Med* 9: 338–342, 2003
17. Bernard GR, Vincent JL, Laterre PF, LaRosa SP, Dhainaut JF, Lopez-Rodriguez A, Steingrub JS, Garber GE, Helterbrand JD, Ely EW, and Fisher CJ Jr. Efficacy and safety of recombinant human activated protein C for severe sepsis. *N Engl J Med* 344: 699–709, 2001
18. Cocks TM, Fong B, Chow JM, Anderson GP, Frauman AG, Goldie RG, Henry PJ, Carr MJ, Hamilton JR, and Moffatt JD. A protective role for protease-activated receptors in the airways. *Nature* 398: 156–160, 1999
19. Fiorucci S, Mencarelli A, Palazzetti B, Distrutti E, Vergnolle N, Hollenberg MD, Wallace JL, Morelli A, and Cirino G. Proteinase-activated receptor 2 is an anti-inflammatory signal for colonic lamina propria lymphocytes in a mouse model of colitis. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 13936–13941, 2001
20. Kawabata A, Kinoshita M, Nishikawa H, Kuroda R, Nishida M, Araki H, Arizono N, Oda Y, and Takehi K. The protease-activated receptor-2 agonist induces gastric mucus secretion and mucosal cytoprotection. *J Clin Invest* 107: 1443–1450, 2001
21. Moffatt JD, Jeffrey KL, and Cocks TM. Protease-activated receptor-2 activating peptide SLIGRL inhibits bacterial lipopolysaccharide-induced

- recruitment of polymorphonuclear leukocytes into the airways of mice. *Am J Respir Cell Mol Biol* 26: 680–684, 2002
22. Napoli C, Cicala C, Wallace JL, de Nigris F, Santagada V, Caliendo G, Franconi F, Ignarro LJ, and Cirino G. Protease-activated receptor-2 modulates myocardial ischemia-reperfusion injury in the rat heart. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 3678–3683, 2000
 23. Even-Ram S, Uziely B, Cohen P, Grisaru-Granovsky S, Maoz M, Ginzburg Y, Reich R, Vlodaysky I, and Bar-Shavit R. Thrombin receptor overexpression in malignant and physiological invasion processes. *Nat Med* 4: 909–914, 1998
 24. Henrikson KP, Salazar SL, Fenton JW II, and Pentecost BT. Role of thrombin receptor in breast cancer invasiveness. *Br J Cancer* 79: 401–406, 1999
 25. Darmoul D, Gratio V, Devaud H, Lehy T, and Laburthe M. Aberrant expression and activation of the thrombin receptor protease-activated receptor-1 induces cell proliferation and motility in human colon cancer cells. *Am J Pathol* 162: 1503–1513, 2003.
 26. Darmoul D, Marie JC, Devaud H, Gratio V, and Laburthe M. Initiation of human colon cancer cell proliferation by trypsin acting at protease-activated receptor-2. *Br J Cancer* 85: 772–779, 2001
 27. Nierodzik ML, Chen K, Takeshita K, Li JJ, Huang YQ, Feng XS, D'Andrea MR, Andrade-Gordon P, and Karpatkin S. Protease-activated receptor 1 (PAR-1) is required and rate-limiting for thrombin-enhanced experimental pulmonary metastasis. *Blood* 92: 3694–3700, 1998.
 28. Nierodzik ML, Kajumo F, and Karpatkin S. Effect of thrombin treatment of tumor cells on adhesion of tumor cells to platelets in vitro and tumor metastasis in vivo. *Cancer Res* 52: 3267–3272, 1992
 29. Napoli C, De Nigris F, Cicala C, Wallace JL, Caliendo G, Condorelli M, Santagada V, and Cirino G. Protease-activated receptor-2 activation improves efficiency of experimental ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart CircPhysiol* 282: H2004– H2010, 2002
 30. Neuro-Coagulopathy: Blood Coagulation Factors in Central Nervous System Diseases Ciro De Luca¹, Assunta Virtuoso², Nicola Maggio^{3,4}, Michele Papa^{5,6} PMID: 29023416 PMCID: [PMC5666810](#) DOI: [10.3390/ijms18102128](#)
 31. Bateman BT, Schumacher HC, Wang S, Shaefi S, Berman MF. Perioperative acute ischemic stroke in noncardiac and nonvascular surgery: incidence, risk factors, and outcomes. *Anesthesiology*. 2009;110:231–238
 32. Selim M. Perioperative stroke. *N Engl J Med*. 2007;356:706–713
 33. Sanders RD, Jørgensen ME, Mashour GA. Perioperative stroke: a question of timing? *Br J Anaesth*. 2015;115:11–13
 34. Mashour GA, Moore LE, Lele AV, Robicsek SA, Gelb AW. Perioperative care of patients at high risk for stroke during or after non-cardiac, non-neurologic surgery: consensus statement from the Society for Neuroscience in Anesthesiology and Critical Care*. *J NeurosurgAnesthesiol*. 2014;26:273–285
 35. Nah HW, Lee JW, Chung CH, Choo SJ, Kwon SU, Kim JS, et al. New brain infarcts on magnetic resonance imaging after coronary artery bypass graft surgery: lesion patterns, mechanism, and predictors. *Ann Neurol*. 2014;76:347–355

36. Likosky DS, Marrin CA, Caplan LR, Baribeau YR, Morton JR, Weintraub RM, et al. Determination of etiologic mechanisms of strokes secondary to coronary artery bypass graft surgery. *Stroke*. 2003;34:2830–2834.
37. Blacker DJ, Flemming KD, Link MJ, Brown RD., Jr The preoperative cerebrovascular consultation: common cerebrovascular questions before general or cardiac surgery. *Mayo Clin Proc*. 2004;79:223–229
38. Collins GJ, Jr, Barber JA, Zajtchuk R, Vanek D, Malogne LA. The effects of operative stress on the coagulation profile. *Am J Surg*. 1977;133:612–616
39. Vlisides P, Mashour GA. Perioperative stroke. *Can J Anaesth*. 2016;63:193–204
40. Sang-Bae Ko. Perioperative stroke: pathophysiology and management. *Korean J Anesthesiol*. 2018 Feb; 71(1): 3–11
41. Cemillán CA, Alonso-Pulpón L, Burgos-Lázaro R, Millán-Hernández I, del Ser T, Liaño-Martínez H. Neurological complications in a series of 205 orthotopic heart transplant patients. *Rev Neurol*. 2004;38:906–912.
42. Belvis R, Martí-Fàbregas J, Cocho D, García-Bargo MD, Franquet E, Agudo R, et al. Cerebrovascular disease as a complication of cardiac transplantation. *Cerebrovasc Dis*. 2005;19:267–271.
43. Gottesman RF, Sherman PM, Grega MA, Yousem DM, Borowicz LM, Jr, Selnes OA, et al. Watershed strokes after cardiac surgery: diagnosis, etiology, and outcome. *Stroke*. 2006;37:2306–2311. [
44. Loar RW, Patterson MC, O'Leary PW, Driscoll DJ, Johnson JN. Posterior reversible encephalopathy syndrome and hemorrhage associated with tacrolimus in a pediatric heart transplantation recipient. *Pediatr Transplant*. 2013;17:E67–E70.
45. Udesh R, Mehta A, Gleason TG, Wechsler L, Thirumala PD. Perioperative strokes and early outcomes in mitral valve surgery: a nationwide analysis. *J CardiothoracVascAnesth*. 2017;31:529–536
46. Kim J, Gelb AW. Predicting perioperative stroke. *J NeurosurgAnesthesiol*. 1995;7:211–215.
Gelb AW, Cowie DA. Perioperative stroke prevention. *AnesthAnalg*. 2001;92:46–53.
47. Maas AH, Appelman YE. Gender differences in coronary heart disease. *Neth Heart J*. 2010;18:598–602.
48. Flora GC, Baker AB, Loewenson RB, Klassen AC. A comparative study of cerebral atherosclerosis in males and females. *Circulation*. 1968;38:859–869.
49. Kikura M, Oikawa F, Yamamoto K, Iwamoto T, Tanaka KA, Sato S, et al. Myocardial infarction and cerebrovascular accident following noncardiac surgery: differences in postoperative temporal distribution and risk factors. *J ThrombHaemost*. 2008;6:742–748
50. Udesh R, Solanki P, Mehta A, Gleason T, Wechsler L, Thirumala PD. Carotid artery stenosis as an independent risk factor for perioperative strokes following mitral valve surgical intervention. *J Neurol Sci*. 2017;382:170–184.
51. Castaldo JE, Yacoub HA, Li Y, Kincaid H, Jenny D. Open heart surgery does not increase the incidence of ipsilateral ischemic stroke in patients with

- asymptomatic severe carotid stenosis. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 2017;26:2154–2159
52. Boven, L. A. et al. Up-regulation of proteinase-activated receptor 1 expression in astrocytes during HIV encephalitis. *J. Immunol.* **170**, 2638–2646 (2003).
 53. Moller, T., Hanisch, U. K. & Ransom, B. R. Thrombin induced activation of cultured rodent microglia. *J. Neurochem.* **75**, 1539–1547 (2000).
 54. Suo, Z. et al. Participation of protease-activated receptor-1 in thrombin-induced microglial activation. *J. Neurochem.* **80**, 655–666 (2002)
 55. Vaughan, P. J., Pike, C. J., Cotman, C. W. & Cunningham, D. D. Thrombin receptor activation protects neurons and astrocytes from cell death produced by environmental insults. *J. Neurosci.* **15**, 5389–5401 (1995).
 56. Donovan, F. M. & Cunningham, D. D. Signaling pathways involved in thrombin-induced cell protection. *J. Biol. Chem.* **273**, 12746–12752 (1998).
 57. Striggow, F. et al. The protease thrombin is an endogenous mediator of hippocampal neuroprotection against ischemia at low concentrations but causes degeneration at high concentrations. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **97**, 2264–2269 (2000) .
 58. *NEnglJMed.* 1995 14 Δεκεμβρίου; 333 (24): 1581-7
 59. Thrombolysis in Postoperative Stroke. Voelkel N, Hubert ND, Backhaus R, Haberl RL, Hubert GJ
 60. *Stroke.* 2017 Nov; 48(11):3034-3039
 61. Endovascular Recanalization Therapy in Acute Ischemic Stroke: Updated Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. Hong KS, Ko SB, Lee JS, Yu KH, Rha JH *J Stroke.* 2015 Sep; 17(3):268-81
 62. Mechanical Thrombectomy in Perioperative Strokes: A Case-Control Study. *Stroke.* 2017 Nov; 48(11):3149-3151
 63. Effect of Heparin on Recanalization in Acute Stroke Patients with Intra-Arterial Thrombi. Mehta BK, Kamal H, McMurtray A, Shafie M, Li P, *Neurol Int.* 2015 Sep 24; 7(2):5807.
 64. Sheehan J.P, Sadler J.E. (1994) “Molecular mapping of the herapin binding exosite of thrombin”. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, 5518.
 65. Fentom J, Olson TA, ZabinskiMP.(1998) “Anion-binding exosite of human a-thrombin and fibrin(ogen) recognition”. *Biochemistry* 27, 7106.
 66. Bezeaund A, Guillin MC. (1988) “Enzymic and nonenzymic properties of human beta-thrombin”. *J. Biol. Chem.* 263, 3576.
 67. Bourdon P, Fenton JW 2nd, Maraganore JM. (1990) “Affinity labeling of lysine-149 in the anion-binding exosite of human alpha-thrombin with an N alpha-(dinitrofluorobenzyl) hirudin C- terminal peptide”. *Biochemistry* 29, 6379
 68. HongWang, Joachim J.Ubl and Georg Reiser (2002), Four subtypes of protease-activated receptors, co-expressed in rat astrocytes, evoke different physiological signaling,DOI: 10.1002/glia.10012, 37(1), p: 53-63.
 69. Simone P. Niclou et al. (2001), Changes in the expression of protease-activated receptor 1 and protease nexin-1 mRNA during rat nervous system development and after nerve lesion, <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.1998.00183.x>

70. Brant M. Weinstein et al. (1995), gridlock, a localized heritable vascular patterning defect in the zebrafish, *Nature Medicine*, volume 1, p: 1143–1147.
71. Published: 06 April 2000 Mayumi Nakanishi-Matsui et al. (2000), PAR3 is a cofactor for PAR4 activation by thrombin, *Nature*, volume 404, p: 609–613 (2000).
72. H Lee et al. (2012), Safety and efficacy of targeting platelet proteinase-activated receptors in combination with existing anti-platelet drugs as antithrombotics in mice, *BJP*, <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.01944.x>
73. Nicolas A. Nelken et al. (1992), Thrombin Receptor Expression in Normal and Atherosclerotic Human Arteries, *J. Clin. Invest.*, Volume 90, p: 1614-1621.