

Η φλεγμονώδης αντίδραση μετά από οξεία εγκεφαλική ισχαιμία

Πειραματικά δεδομένα και προκαταρκτικές μελέτες σε ανθρώπους υποδεικνύουν ότι οι μηχανισμοί της φλεγμονής συνεισφέρουν σημαντικά στην πρόκληση της εγκεφαλικής βλάβης μετά από οξεία ισχαιμία. Η ισχαιμία, ακολουθούμενη από επαναιμάτωση, ταχέως οδηγεί στην έκφραση φλεγμονωδών κυτταροκινών, ιδιαίτερα των TNF-α και IL-1β, οι οποίες ενεργοποιούν μια σειρά από φαινόμενα, που αφορούν τα τοπικά ενδοθηλιακά κύτταρα, τους νευρώνες, τα αστροκύτταρα και τα περιαγγειακά κύτταρα. Μια δευτερογενής απάντηση περιλαμβάνει την κινητοποίηση και άθλων κυτταροκινών, την ενεργοποίηση των συστατικών του συστήματος πήξης, καθώς και την αύξηση της έκφρασης των μορίων προσκόλλησης. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η ανάπτυξη φλεγμονωδών και προθρομβωτικών/προπηκτικών μεταβολών στο τοπικό ενδοθήλιο και η μετανάστευση στην περιοχή της βλάβης των λευκοκυττάρων, η δράση των οποίων φαίνεται να είναι καθοριστικής σημασίας για την πρόκληση της εγκεφαλικής βλάβης. Τα λευκοκύτταρα ασκούν τη δράση τους προκαλώντας απόφραξη της μικροκυκλοφορίας, παραγωγή και απελευθέρωση ελευθέρων ριζών οξυγόνου, απελευθέρωση κυτταροτοξικών ενζύμων, μεταβολές στον αγγειακό τόνο και αύξηση της απελευθέρωσης κυτταροκινών. Η χρησιμοποίηση μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι των μορίων προσκόλλησης των λευκοκυττάρων έχει οδηγήσει σε ελάττωση του μεγέθους του εμφράκτου σε μοντέλα ισχαιμίας-επαναιμάτωσης σε πειραματόζωα. Παρά τις περιορισμένες ακόμη δυνατότητες χρησιμοποίησης αυτών των σύγχρονων θεραπευτικών μέσων στον άνθρωπο, διάχυτη είναι η πεποίθηση ότι η ακόμη καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών αυτών, καθώς και η επιτυχής λύση των προβλημάτων που δυνατόν να παρουσιάζονται κατά την πρακτική εφαρμογή αυτών των μεθόδων, θα προσφέρουν πολλά στην αντιμετώπιση της οξείας εγκεφαλικής ισχαιμίας.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η οξεία εγκεφαλική ισχαιμία ακολουθείται από μια αλληλουχία γεγονότων, μεταξύ των οποίων μια αναπτυσσόμενη φλεγμονώδης αντίδραση, η οποία διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην πρόκληση της ιστικής βλάβης.¹ Η φλεγμονώδης αυτή διαδικασία προκαλείται από μια δυναμική αλληλεπίδραση ανάμεσα στα εμπλεκόμενα κύτταρα της βλαβείας εγκεφαλικής περιοχής (νευρώνες, αστροκύτταρα, ινοβλάστες, λείες μυϊκές ίνες, ενδοθηλιακά κύτταρα), από τη μια μεριά και εμμόρφων στοιχείων του αίματος από την άλλη. Η αντίδραση αυτή χαρακτηρίζεται από την τοπική έκφραση κυτταροκινών, την αύξηση της δραστηριότητας των μορίων προσκόλλησης των λευκοκυττάρων και την ανάπτυξη προθρομβωτικών, προπηκτικών μεταβολών στο τοπικό ενδοθήλιο.²⁻⁴ Αποτελέ-

σμα των φαινομένων αυτών είναι η κινητοποίηση και η μετανάστευση των μακροφάγων και των ουδετεροφίλων στην περιοχή της βλάβης.⁵ Τα πολυμορφοπύρνα αρχίζουν να συγκεντρώνονται μέσα και γύρω από την περιοχή της ισχαιμίας 4-6 ώρες μετά από παροδική και 12 ώρες μετά από μόνιμη ισχαιμία.⁶

2. ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΑ ΤΗΣ ΙΣΧΑΙΜΟΥΣΑΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ – ΟΡΙΣΜΟΙ ΕΝΝΟΙΩΝ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΗΣ ΙΣΧΑΙΜΙΑΣ

Η ισχαιμία δεν προσβάλλει με την ίδια ταχύτητα όλα τα κύτταρα του εγκεφάλου. Τα νευρικά κύτταρα προσβάλλονται πρωιμότερα και ακολουθούν η ολιγοδενδρογλοία, η αστρογλοία και τελευταία τα ενδοθηλιακά κύτ-

Κ. Χατζηνώγος

Α΄ Παθολογική Κλινική,
ΝΓΝ «Γ. Γεννηματάς», Θεσσαλονίκη

Inflammatory response
after acute stroke

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρετηρίου

Εγκεφαλική ισχαιμία, επαναιμάτωση
Κυτταροκίνες
Μόρια προσκόλλησης
Φλεγμονή

Υποβλήθηκε 2.9.1999
Εγκρίθηκε 17.3.2000

ταρα. Μεταξύ των νευρικών κυττάρων, τα πλέον ευαίσθητα στην ισχαιμία φαίνεται να είναι τα πυραμιδικά κύτταρα του ιπποκάμπου της CA₁ ζώνης, ακολουθούμενα από τα παρεγκεφαλιδικά κύτταρα του Purkinje.

Τα ισχαιμικά εγκεφαλικά επεισόδια χαρακτηρίζονται από μείωση της τοπικής αιματικής ροής. Αυτό μπορεί να είναι είτε αποτέλεσμα απόφραξης μίας μόνο αρτηρίας, με συνέπεια μείωση της ροής μόνο στην αρδευόμενη από την αρτηρία περιοχή και ανάπτυξη βλαβών στη συγκεκριμένη περιοχή (*εστιακή ισχαιμία*), είτε απότοκα μεγάλης μείωσης ή και διακοπής της αιμάτωσης στον εγκέφαλο, οπότε αναπτύσσονται βλάβες σε διάφορα σημεία του εγκεφάλου (*ολική ισχαιμία*).

Η εστιακή και η ολική ισχαιμία οφείλονται άλλοτε σε μερική και άλλοτε σε πλήρη ισχαιμία. Στη *μερική ισχαιμία*, μικρή ποσότητα αίματος εξακολουθεί να αρδεύει την περιοχή. Στην *πλήρη*, υπάρχει πλήρης απουσία αιματικής παροχής.

Σε φυσιολογικές συνθήκες, η μέση αιματική εγκεφαλική ροή (CBF) είναι 50–55 mL/100 g/min και η κατανάλωση οξυγόνου 3,2–4 mL/100 g/min. Όταν η CBF κατέλθει στα 20–22 mL/100 g/min αρχίζουν να παρατηρούνται οι πρώτες δυσλειτουργίες, όπως μείωση των νευρωνικών εκφορτίσεων, εξαφάνιση των φλοιικών προκλητών δυναμικών και επιβράδυνση του ηλεκτροεγκεφαλογραφήματος. Οι διαταραχές αυτές μπορούν να αντιστραφούν με την επάνοδο της κυκλοφορίας. Εάν η CBF ελαττωθεί κάτω από 10 mL/100 g/min, τότε το υπάρχον δραστικό O₂ μειώνεται στα 50 μmol/100 g/min, ποσότητα ανεπαρκή για τη διατήρηση της παραγωγής ATP.⁷ Σημειώνεται τότε εκτροπή προς την αναερόβια γλυκόλυση, η οποία όμως αδυνατεί να καλύψει τις ενεργειακές ανάγκες του κυττάρου, με αποτέλεσμα, πέρα από την αύξηση του

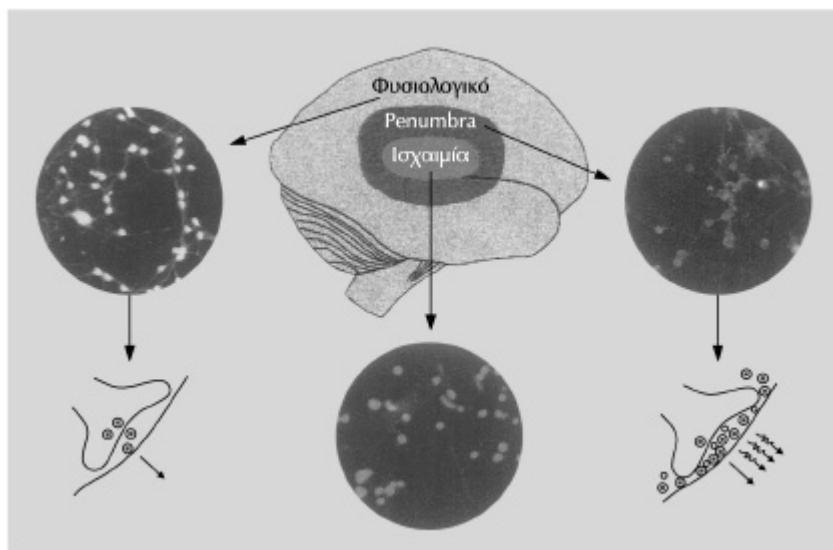
γαλακτικού, το οποίο διαδραματίζει το δικό του ρόλο, διαταραχή και, τελικά, διακοπή της λειτουργίας των αντλιών K, Na και Ca και θάνατο του κυττάρου.⁸

Οι περιοχές, λοιπόν, όπου η CBF ευρίσκεται μεταξύ των κρίσιμων ορίων, ενός ανώτερου, 20–23 mL/100 g/min και ενός κατώτερου, 10 mL/100 g/min, είναι περιοχές με διαθέσιμα ενεργειακά αποθέματα, δηλαδή περιοχές που με την κατάλληλη θεραπευτική παρέμβαση μπορούν να αποκατασταθούν. Οι περιοχές της μεταιχμιακής ισχαιμικής ζώνης φέρονται διεθνώς με το όνομα *penumbra*. Η έννοια της ζώνης αυτής αναπτύχθηκε στη δεκαετία του 1980 και στηρίζεται στην οριακή σχέση μεταξύ αιματικής ροής και λειτουργικής βιωσιμότητας του εγκεφαλικού ιστού.

Παθολογοανατομικά, μετά την εγκατάσταση της ισχαιμίας διακρίνονται τρεις περιοχές βλάβης στον εγκέφαλο:

- Μια κεντρική περιοχή εκτεταμένης νέκρωσης νευρώνων, γλοίας και ενδοθηλίου, της οποίας το εύρος εξαρτάται από τη βαρύτητα και τη φύση του εγκεφαλικού επεισοδίου.
- Μια ζώνη γύρω από την κεντρική περιοχή της πρωτοπαθούς νέκρωσης, με άφθονες νευρωνικές νεκρώσεις και σημεία πολλαπλασιασμού της γλοίας (*ζώνη γενικευμένης νευρικής νέκρωσης*).
- Μια πιο περιφερική περιοχή γύρω από την προηγούμενη, η οποία παρουσιάζει διάφορα σημεία νευρωνικής διόγκωσης και διάχυτου οιδήματος, ανάλογα με το βαθμό ευαισθησίας στην ισχαιμία των νευρωνικών κυττάρων (*ζώνη εκλεκτικής νέκρωσης*).

Οι δύο τελευταίες ζώνες αποτελούν την αναφερθείσα «περιοχή της *penumbra*» (εικ. 1).



Εικόνα 1. Σχηματική αναπαράσταση των περιοχών βλάβης στον εγκέφαλο μετά από ισχαιμία. Ο ρόλος του γλουταμικού είναι καθοριστικός, τόσο σε φυσιολογικές συνθήκες (κάτω αριστερή γωνία), όσο και σε παθολογικές καταστάσεις (κάτω δεξιά γωνία).

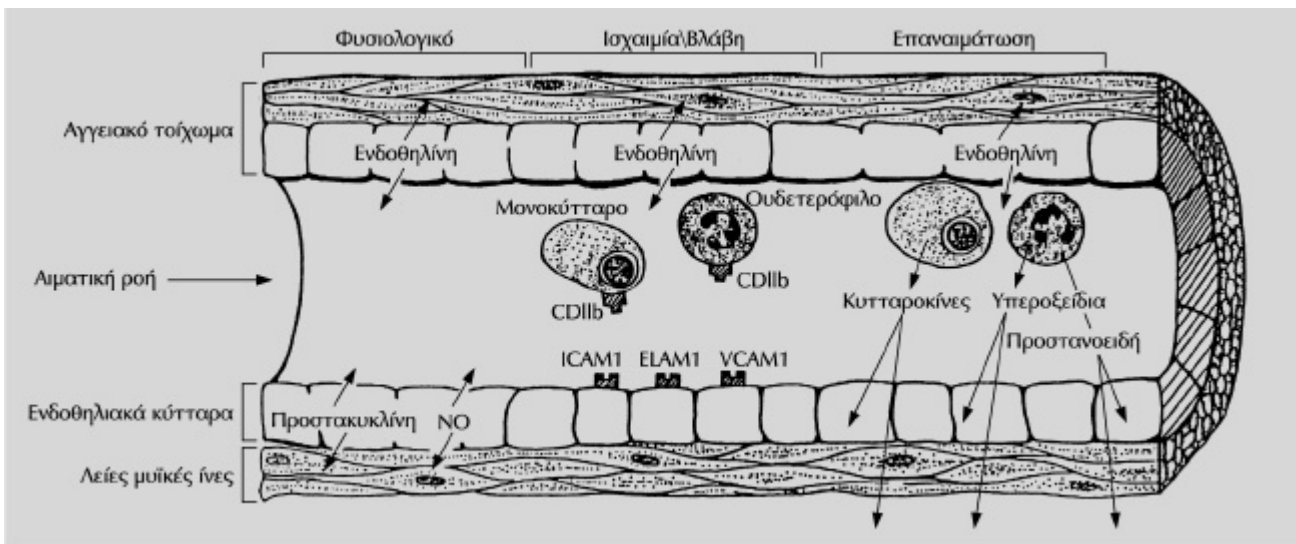
3. ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ: Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΛΕΥΚΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ ΤΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ

Σήμερα αποτελεί πεποίθηση ότι η μετανάστευση των λευκοκυττάρων και η ενεργοποίηση του αγγειακού ενδοθηλίου διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο στη δευτερογενή νευρωνική βλάβη και στην έκταση του εμφράκτου.

Η επίδραση της οξείας υποξίας στα ενδοθηλιακά κύτταρα έχει ως αρχικό αποτέλεσμα το οίδημα του ενδοθηλίου. Με την επάνοδο του αίματος και κυρίως του οξυγόνου παράγονται δραστικοί μεταβολίτες, η κύρια παθολογική συνέπεια της απελευθέρωσης των οποίων είναι η πρόκληση μιας χημειοτακτικής κινητοποίησης, που οδηγεί σε μετανάστευση ενεργοποιημένων ουδετεροφίλων, τα οποία, μετά την ενεργοποίησή τους, παγιδεύονται και συγκολλώνται με τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Ακολουθούν η ανάπτυξη μικροθρομβώσεων και η απελευθέρωση ισχυρών αγγειοσυσπαστικών ουσιών, με τελικό αποτέλεσμα την πλήρη απόφραξη του τριχοειδούς και την αδυναμία διέλευσης του αίματος, ενώ η συνολική αιμάτωση στα μεγάλα κεντρικά αγγεία έχει ήδη αποκατασταθεί (no reflow phenomenon).⁹⁻¹³ Τα ουδετερόφιλα προκαλούν τη βλάβη με την προσκόλλησή τους στο ενδοθήλιο των τριχοειδών κυρίως σε δύο σημεία: στον προτριχοειδικό σφιγκτήρα και στο μετατριχοειδικό φλεβίδιο. Καθώς το ιξώδες τους αυξάνεται, τα ουδετερόφιλα εμφανίζουν αδυναμία να διέλθουν από τον προτριχοειδικό σφιγκτήρα, με αποτέλεσμα την περιγραφείσα δια-

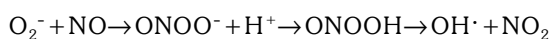
ταραχή της ροής. Τα περισσότερα όμως ουδετερόφιλα προσκολλώνται στο ενδοθήλιο του μετατριχοειδικού φλεβιδίου, προκαλώντας βλάβη με την έκκριση πρωτεολυτικών ενζύμων, όπως ελαστάσης, κολλαγενάσης, β-γλυκουρονιδάσης, Ν-ακετυλο-β-γλυκοζαμινιδάσης, καθώς και μεγάλης ποσότητας ελευθέρων ριζών οξυγόνου, κυτταροκινών και λευκοτριενίων, ουσιών που ενεργοποιούν ή έχουν κυτταροτοξική δράση στα κύτταρα του αρτηριακού τοιχώματος, στα αιμοπετάλια και στα ίδια τα πολυμορφοπύρνα (ΠΜΝ).¹⁴

Η προκαλούμενη κατά την ισχαιμία και την επαναιμάτωση ενδοθηλιακή δυσλειτουργία έχει ως αποτέλεσμα τη διαταραχή των βασικών λειτουργιών που ρυθμίζονται από το ενδοθήλιο, το οποίο, ως γνωστό, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του αγγειακού τόνου (εικ. 2). Τα ενδοθηλιακά κύτταρα παράγουν και ελευθερώνουν πληθώρα παραγόντων, είτε αγγειοσυσπαστικών είτε αγγειοδιασταλτικών, όπως EDRF, προστακυκλίνη, αδενοσίνη, βραδυκινίνη, σεροτονίνη, θρομβοξάνη, ενδοθηλίνη κ.ά. Οι παράγοντες αυτοί επιδρούν στα λεία μυϊκά κύτταρα του τοιχώματος των αγγείων ρυθμίζοντας τη λειτουργική τους κατάσταση και επομένως τον αγγειακό τόνο. Σε κάθε χρονική στιγμή, το τελικό αποτέλεσμα, αγγειοδιαστολή ή αγγειοσυστολή, εξαρτάται από την υπεροχή κατά τη στιγμή εκείνη της μιας ή της άλλης κατηγορίας αγγειοδραστικών ουσιών. Κατά την ισχαιμία και την επαναιμάτωση, η αγγειοδιασταλτική λειτουργία του ενδοθηλίου ελαττώνεται λόγω της απενεργοποίησης



Εικόνα 2. Κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας παρατηρείται ελάττωση της παραγωγής της προστακυκλίνης και του μονοξειδίου του αζώτου, που παράγονται υπό φυσιολογικές συνθήκες, ενώ παράλληλα σημειώνεται αύξηση της παραγωγής της ενδοθηλίνης. Επίσης, λαμβάνει χώρα ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων, καθώς και αύξηση της έκφρασης των μορίων προσκόλλησης των ενδοθηλιακών κυττάρων. Κατά την επαναιμάτωση, τα χαρακτηριστικότερα φαινόμενα είναι η προσκόλληση των λευκοκυττάρων, η μετανάστευσή τους διαμέσου του αγγειακού τοιχώματος και η παραγωγή κυτταροκινών, προστανοειδών και υπεροξειδίων, τα οποία προκαλούν περαιτέρω κυτταρική βλάβη, οίδημα και απώλεια υγρών.

της προσταγλανδίνης I_2 , της αδενοσίνης και του μονοξειδίου του αζώτου (NO), το οποίο έχει ταυτοποιηθεί ως ο «ενδοθηλιοπαραγόμενος παράγοντας χάλασης» (EDRF), και με τον τρόπο αυτόν υπερικχύνει η αγγειοσυσπαστική δράση.¹⁵ Εν μέρει το φαινόμενο αυτό εξηγείται από την παραγωγή ενεργών μεταβολικών του O_2 από τα ισχαιμικά ενδοθηλιακά κύτταρα και τα προσκολλημένα σ' αυτά ουδετερόφιλα. Η ικανότητα του μονοξειδίου του αζώτου να αντιδρά με το υπεροξειδικό ανιόν (O_2^-), δημιουργώντας αρχικά υπεροξυνιτρώδες οξύ και στη συνέχεια υδροξυλική ρίζα, έχει ως αποτέλεσμα όχι μόνο να εξαλείφεται το NO, με συνέπεια να μην ασκεί τις προστατευτικές του δράσεις (αγγειοδιασταλτική δράση, αναστολή της συγκόλλησης των αιμοπεταλίων), αλλά ταυτόχρονα να παράγονται τα εξαιρετικά τοξικά ONOOH και OH^- .¹⁶



Η κατά την ισχαιμία και επαναιμάτωση έκρηξη παραγωγής ελευθέρων ριζών οξυγόνου (EPO) και κυρίως του υπεροξειδικού ανιόντος και της υδροξυλικής ρίζας, οδηγεί στο σχηματισμό λιποϋδροϋπεροξειδίων (LOOH) από τη δράση των EPO στα λιπαρά οξέα των κυτταρικών μεμβρανών, στα φωσφολιπίδια των οποίων τα λιπαρά οξέα βρίσκονται εστεροποιημένα. Κυρίως πρόκειται για το αραχιδονικό (AA, $C_{20:4}$) και το εικοσιδυεξαενοϊκό οξύ (DHA, $C_{22:6}$). Η υπεροξειδωση των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων διευκολύνεται από τις μιτοχονδριακές NADH-αφυδρογονάσες και επηρεάζεται από τη ροή των ηλεκτρονίων στην αναπνευστική αλυσίδα και τη συγκέντρωση της ανηγμένης ουβικινόνης.¹⁷ Τα λιποϋδροϋπεροξειδία αποτελούν συνένζυμα της κυκλοοξυγενάσης και η αύξησή τους προκαλεί την ενεργοποίηση της αντίστοιχης καταβολικής οδού του αραχιδονικού οξέος. Ταυτόχρονα, τα υπεροξειδία των λιπαρών οξέων αναστέλλουν την παραγωγή προστακυκλίνης από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, αναστέλλοντας τη δράση ή ακόμη επιφέροντας και καταστροφή –σε υψηλότερα επίπεδα συγκέντρωσής τους– των σχετικών συνθετασών. Με τη δράση τους αυτή ευνοούν το σχηματισμό της θρομβοξάνης A_2 σε βάρος της προστακυκλίνης, με τελικό αποτέλεσμα την εγκατάσταση αγγειοσυσπασσης και την επιδείνωση της ισχαιμίας.¹⁸

Τα παραγόμενα υπεροξειδία είναι ασταθή και διασπώνται σε αλδεΐδες, κυρίως μαλνοδιαλδεΐδη και 4-υδροξυνοενάλη, και σε συζευγμένα διένια, που διαδοχικά διασπώνται. Τα προϊόντα αυτά, και κυρίως η 4-υδροξυνοενάλη, επιδρούν στους NMDA (N-methyl-D-aspartic acid) υποδοχείς των διεγερτικών αμινοξέων του κεντρικού νευρικού συστήματος, κυρίως του L-γλουταμι-

κού και του L-ασπαρτικού, διεγείροντας την εισροή Ca^{2+} στο εσωτερικό του νευρικού κυττάρου, με αποτέλεσμα διέγερση της υδρολυτικής δραστηριότητας της φωσφολιπάσης A_2 , απελευθέρωση AA και συνακόλουθο σχηματισμό TBARS.¹⁹ Ως TBARS (thiobarbiturate reactive substances, ουσίες που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ) φέρονται συλλήβδην τα προϊόντα διάσπασης των λιπιδικών υπεροξειδίων, μαλνοδιαλδεΐδη, 4-υδροξυνοενάλη και συζευγμένα διένια, ο προσδιορισμός των οποίων στα βιολογικά υγρά γίνεται τόσο χρωματογραφικά όσο και με την αντίδραση του θειοβαρβιτουρικού οξέος (TBA). Τόσο το απελευθερούμενο AA, όσο και τα TBARS επάγουν την έκκριση της γλουταμίνης, ενώ παράλληλα αναστέλλουν την επαναπρόσληψή της από τους νευρώνες και τα νευρογλοιακά κύτταρα, με συνέπεια αύξηση της συγκέντρωσης της γλουταμίνης στο συναπτικό χώρο.^{20,21} Η γλουταμίνη επιτείνει τη νευροτοξικότητα των TBARS, με επακόλουθο τη δημιουργία ενός φαύλου κύκλου μεταξύ της γλουταμίνης, που επάγει την παραγωγή AA και TBARS, από τη μια μεριά, και των AA και TBARS, από την άλλη, τα οποία επάγουν την αύξηση της συγκέντρωσης της γλουταμίνης,²¹ ενώ συγχρόνως επάγεται η διατήρηση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης Ca^{2+} σε αυξημένα επίπεδα, που συμβάλλει στη νευροτοξικότητα.²²

Πέραν όλων αυτών, στην ανωτέρω αναφερθείσα εγκατάσταση αγγειοσυσπασσης συντείνει και ένα άλλο γεγονός. Η υποξία, όταν ακολουθείται από επανοξυγόνωση, έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση περίπου κατά 200% της απελευθέρωσης της ενδοθηλίνης-1 από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, η οποία παρουσιάζει ισχυρότατη αγγειοσυσπαστική δράση.²³ Ερεθίσματα για την παραγωγή ενδοθηλίνης-1 αποτελούν η επίδραση της αδρεναλίνης, της ιντερλευκίνης-1, της βραδυκινίνης, της βαζοπρεσίνης, της αγγειοτασίνης II, της θρομβίνης και του αυξητικού παράγοντα μετασχηματισμού-β (TGF-β). Παράλληλα με την άμεση αγγειοσυσπαστική δράση, η ενδοθηλίνη-1, μέσω αρνητικού μηχανισμού παλίνδρομης αλληλορρύθμισης, επηρεάζει την απελευθέρωση άλλων αγγειοδραστικών ουσιών, όπως NO και προστακυκλίνης, ενώ με θετικό μηχανισμό ανάδρασης απελευθερώνει κατεχολαμίνες, νατριουρητικό κολπικό πεπτίδιο και βαζοπρεσίνη και αναστέλλει την έκκριση ρενίνης.^{24,25}

Εκτός από τον έλεγχο του αγγειακού τόνου και τις άλλες λειτουργίες της, η ενδοθηλιακή σιβάδα, αποτελούμενη από 1 τρισεκατομμύριο κύτταρα και επιφάνειας περίπου 1000–5000 m^2 ,¹⁸ διατηρεί μια ευαίσθητη και λεπτή ισορροπία, όσον αφορά στα φαινόμενα ηλεκτρικότητας και αντιπηκτικότητας. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα διαθέτουν μια σειρά αντιπηκτικών και αντιθρομβωτικών μηχανισμών, ενώ παράλληλα εμφανίζουν πολλές ιδιότητες που

Πίνακας 1. Ρυθμιστικοί παράγοντες της ηπηκτικότητας του αίματος παραγόμενοι από το ενδοθήλιο.

Ευνοούντες την ηπηκτικότητα	Αντιηπηκτικοί παράγοντες
Θρομβοξάνη	Προστακυκλίνη
Παράγοντας von Willenbrand	Πρωτεΐνη C
Ιντερλευκίνη-1	Πρωτεΐνη S
Αιμοπεταλικός ενεργοποιός παράγοντας (PAF)	Θρομβομοντουλίνη Θεική ηπαρίνη
Φωσfolιπίδια	Αναστολέας της οδού του ιστικού παράγοντα
Ιστικός παράγοντας	Ουροκινάση
Αναστολέας πλασμινογόνου τύπου 1	Ενεργοποιητής πλασμινογόνου ιστικού τύπου

ευνοούν την ηπηκτικότητα (πίν. 1). Η ισορροπία μεταξύ των αντιηπηκτικών και ηπηκτικών ιδιοτήτων ρυθμίζεται από σήματα εκλυόμενα από το αίμα και τα γεινιάζοντα κύτταρα. Η υπέρσχυση της αντιηπηκτικής κατάστασης οφείλεται στη συνδεδεμένη με τη μεμβράνη των ενδοθηλιακών κυττάρων θεική ηπαρίνη, η οποία, όπως και η ηπαρίνη, αυξάνει τη χημική συγγένεια της αντιθρομβίνης III προς τη θρομβίνη. Το σύμπλοκο ηπαρίνης-αντιθρομβίνης III, το οποίο δρα στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων, ταχέως αδρανοποιεί την κυκλοφορούμενη θρομβίνη και άλλες ενεργοποιημένες πρωτεΐνες του ηπηκτικού μηχανισμού, όπως και τους παράγοντες πήξης VII, IX και X.²⁶ Επιπλέον, τα ενδοθηλιακά κύτταρα έχουν τη δυνατότητα να αποτρέψουν την πήξη του αίματος με την οδό της πρωτεΐνης C. Η πρωτεΐνη θρομβομοντουλίνη, η οποία συντίθεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, συνδέεται με υποδοχέα της κυτταρικής επιφάνειάς τους. Το σύμπλεγμα υποδοχέα-θρομβομοντουλίνης δεσμεύει τη θρομβίνη και έτσι εξουδετερώνει την πρωτεολυτική της δραστηριότητα για το ινωδογόνο. Η πρωτεΐνη C ενεργοποιείται από το σύμπλεγμα θρομβομοντουλίνης-θρομβίνης και η ενεργοποιημένη πρωτεΐνη C συνδέεται με την πρωτεΐνη S στην επιφάνεια του ενδοθηλίου, με αποτέλεσμα αδρανοποίηση του παράγοντα πήξης Va και, συνεπώς, αναστολή του μηχανισμού πήξης του αίματος. Επιπρόσθετα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα έχουν την ικανότητα να αποτρέψουν τη συγκόλληση και τη συσσωμάτωση των αιμοπεταλίων συνθέτοντας την προστακυκλίνη PGI₂ και την ικανότητα να αποδομούν τη σχηματισθείσα ινική ενεργοποιώντας το πλασμινογόνο προς πλασμίνη.^{27,28}

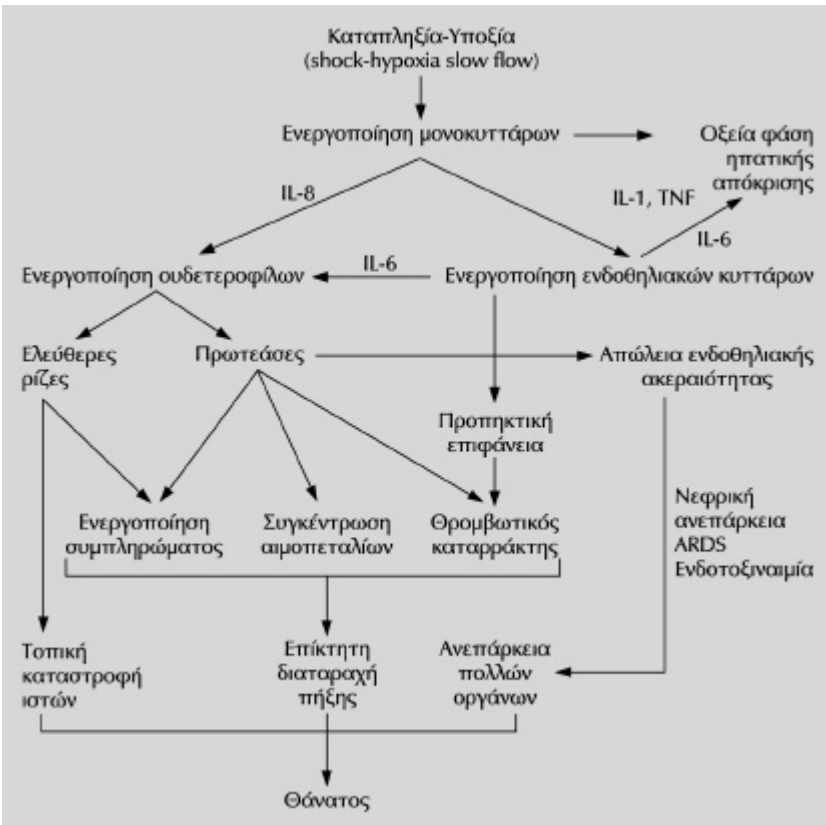
Η ευνοούσα την ηπηκτικότητα δράση οφείλεται (α) στη σύνθεση από το ενδοθήλιο του ιστικού παράγοντα, του ενεργοποιού παράγοντα των αιμοπεταλίων (PAF), ενός από τους αναστολείς του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου και του παράγοντα von Willebrand (vWF) και (β) στην έκφραση πολλών υποδοχέων για παράγοντες της πήξης.

Όταν τα ενδοθηλιακά κύτταρα εκτίθενται σε μια ποικιλία μεσολαβητών της φλεγμονής, που προέρχονται από το πλάσμα ή από τα μακροφάγα (ενδοτοξίνη, TNF), απαντούν με μεταβολή της ισορροπίας μεταξύ ηπηκτικότητας και αντιηπηκτικότητας του αίματος, ευνοώντας την ηπηκτικότητα.²⁹ Επίσης, συνθέτουν και εκφράζουν την IL-1, η οποία ευνοεί τη θρόμβωση, προάγοντας την ενεργοποίηση του ανασταλτή του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (PAI-1, plasminogen activator inhibitor type 1), του ιστικού παράγοντα, του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF) και της ενδοθελίνης-1, ενώ, παράλληλα, οδηγεί σε ελάττωση του ενεργοποιητή του ιστικού πλασμινογόνου (tPA), μειώνει την παραγωγή θρομβομοντουλίνης στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων και αναστέλλει τις αντιηπηκτικές επιδράσεις των πρωτεϊνών C και S.^{30,31} Οι συνδυασμένες αυτές δράσεις οδηγούν στο σχηματισμό, την παραμονή και τη διατήρηση των μικροθρόμβων μέσα στα τριχοειδή, με τελικό αποτέλεσμα την ελάττωση της μικροκυκλοφορίας.³²

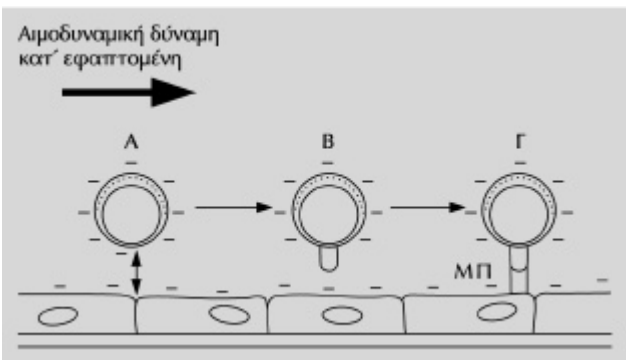
Φυσιολογικά, η αλληλεπίδραση μεταξύ των ενεργοποιημένων μονοκυττάρων και ουδετεροφίλων, από τη μια πλευρά, και ενδοθηλιακών κυττάρων από την άλλη, η οποία οδηγεί στον καταρράκτη της φλεγμονώδους αντίλησης κατά την επαναιμάτωση (εικ. 3), εμποδίζεται από αρνητικά φορτισμένα μόρια, τα οποία ευρίσκονται πάνω στη μεμβράνη των ενδοθηλιακών κυττάρων, καθώς επίσης και από την παραγωγή πλήθους αντιφλεγμονωδών ουσιών. Κατά τη διάρκεια όμως της ισχαιμίας, οι αντιφλεγμονώδεις και αγγειοδιασταλτικές αυτές ουσίες εξαντλούνται και στη θέση τους εμφανίζονται επί των ενδοθηλιακών κυττάρων μόρια, τα οποία ευνοούν τη συγκόλλησή τους με τα ουδετερόφιλα. Τα *μόρια προσκόλλησης* αποτελούν σημαντικό παράγοντα, ο οποίος καθορίζει το κατά πόσο τα λευκά αιμοσφαίρια θα συγκολληθούν με το ενδοθήλιο των τριχοειδών, ενώ, επιπλέον, ελέγχουν και τη μετανάστευση των λευκοκυττάρων στους περιαγγειακούς ιστούς.^{33,34}

4. ΜΟΡΙΑ ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΣΗΣ

Ως μόρια προσκόλλησης ορίζονται μια ετερογενής ομάδα εξειδικευμένων κυτταρικών επιφανειακών δομών, οι οποίες, συνδεδεμένες με υποδοχείς στην επιφάνεια γειτονικών κυττάρων, συντελούν τόσο στη διευκόλυνση της μετακίνησης των κυττάρων, όσο και στη συγκράτηση μεταξύ τους σε επαφή, προκειμένου να επιτευχθεί κυτταρική επικοινωνία και συνεργασία (εικ. 4). Η έκφρασή τους μεταβάλλεται ποσοτικά και ποιοτικά ανάλογα με τα ερεθίσματα του περιβάλλοντος. Τα φαινόμενα προαγωγής της κυτταρικής προσκόλλησης (ή και ανα-



Εικόνα 3. Ενεργοποίηση μονοκυττάρων/ουδετεροφίλων και ενδοθηλιακών κυττάρων και ο καταρράκτης της φλεγμονώδους αντίδρασης.



Εικόνα 4. Η έκφραση των μορίων προσκόλλησης (ΜΠ) (B) προάγει την προσκόλληση των λευκών αιμοσφαιρίων στο ενεργοποιημένο αγγειακό ενδοθήλιο (Γ), υπερνικωμένων των ηλεκτρικών απωστικών δυνάμεων των επιφανειακών φορτίων και της κατά τόπους κατ' εφασπτομένη αιμοδυναμικής δύναμης, που εμποδίζουν την προσκόλληση (A).

στολής της με τη μεσολάβηση μορίων αντιπροσκόλλησης, antiadhesive molecules) ενέχουν λίαν σημαντικό ρόλο, τόσο σε φυσιολογικές καταστάσεις και λειτουργίες, όπως στην εγκατάσταση, ανάπτυξη και διατήρηση της κανονικής αρχιτεκτονικής των ιστών, στην εξαγγείωση των λευκοκυττάρων, στη φλεγμονή, στην επούλωση των τραυμάτων, στην πήξη και αιμόσταση γενικώς και στην εμβρυογένεση, όσο και στις διαδικασίες της καρκινικής διήθησης και

μετάστασης, καθορίζοντας το εάν, πότε, πού και πώς θα κινηθεί ένα κύτταρο, καθώς και το πότε θα σταματήσει να μεταναστεύει.³⁵ Στην περίπτωση των λευκοκυττάρων-κυττάρων αγγειακού ενδοθηλίου εγκεφάλου, η αλληλεπίδραση αυτή φαίνεται να καθορίζεται από τρεις τύπους μορίων προσκόλλησης (πίν. 2).

Η πρώτη ομάδα είναι η *οικογένεια των σελεκτινών*. Πρόκειται για γλυκοπρωτεΐνες σχετιζόμενες με τον εποίκισμό των λευκοκυττάρων. Αποτελούνται από εξοκυττάριο τμήμα ανάλογο με τον C-τύπο λεκτίνης, μια περιοχή ανάλογη προς τον επιδερμικό αυξητικό παράγοντα (epidermal growth factor) και επαναλαμβανόμενες ακολουθίες, που εμφανίζουν ομολογία με τις ρυθμιστικές πρωτεΐνες του συμπληρώματος. Οι συνδέτες των σελεκτινών είναι γλυκοπρωτεϊνικά μόρια επί των λεμφοκυττάρων και του ενδοθηλίου.

Έχουν περιγραφεί τρεις σελεκτίνες.

Η *P-σελεκτίνη*, επί των αιμοπεταλίων και των ενδοθηλιακών κυττάρων, εκφράζεται στην επιφάνεια των κυττάρων μέσα σε λίγα λεπτά μετά την έκθεση σε ερέθισμα όπως η θρομβίνη.³⁶

Η *E-σελεκτίνη*, γνωστή και ως ELAM-1, 110 kDa, δεν είναι παρούσα πάνω στα εν ηρεμία ενδοθηλιακά κύτταρα, αλλά εκφράζεται ταχέως, εντός 2 ωρών, μετά την έκθεση

Πίνακας 2. Οικογένειες των μορίων προσκόλλησης και οι εκπρόσωποί τους. Αιμλ=Αιμοπετάλια, ΕΚ=Ενδοθηλιακά κύτταρα, ΠΜΝ=Πολυμορφοκύτταρα, Μ=Μονοκύτταρα, Λ=Λεμφοκύτταρα, Θ=Θυμοκύτταρα, sLe^x=sialyl-Lewis^x, sLe^a=sialyl-Lewis^a.

Μόρια	CD ονομασία	Έκφραση	Κύτταρα-στόχος	Συνδέτης
<i>Σελεκτίνες</i>				
P-σελεκτίνη	CD62P	Ενεργοποιημένα Αιμλ, ΕΚ	ΠΜΝ, Μ, Λ, ΕΚ	sLe ^x , sLe ^a
E-σελεκτίνη	CD62E	ΕΚ	Λευκοκύτταρα	sLe ^x , sLe ^a
L-σελεκτίνη	CD62L	ΠΜΝ, Μ, Λ	ΕΚ	sLe ^x , sLe ^a
<i>Ιντεγκρίνες</i>				
LFA-1	CD11a/CD18	Θ, Μ, ΠΜΝ	ΕΚ	ICAM-1, ICAM-2
MAC-1	CD11b/CD18	Μ, ΠΜΝ	ΕΚ	ICAM-1, IC38
p150, 95	CD11c/CD18	Μ, ΠΜΝ	ΕΚ	IC38
VLA-4	CD49d/CD29	Μ, Λ (όχι ΠΜΝ)	ΕΚ	VCAM-1
<i>Υπεροικογένεια Ig</i>				
ICAM-1	CD54	ΕΚ, Μ	Λευκοκύτταρα, ΕΚ	LFA-1, MAC-1
VCAM-1	CD106	ΕΚ	Μ, Λ	VLA-4
PECAM-1	CD31	ΕΚ, Αιμλ, λευκοκύτταρα	ΕΚ, Αιμλ, λευκοκύτταρα	CD31-CD31

στην επίδραση των κατάλληλων κυτταροκινών, φθάνει στο μέγιστο της έκφρασής της σε 4–8 ώρες και επιστρέφει στα βασικά επίπεδα σε 24 ώρες.³⁷ Και οι δύο αυτές σελεκτίνες αναγνωρίζουν υδατανθρακικές δομές, οι οποίες φέρουν στο μόριό τους σιαλικό οξύ και βρίσκονται σε πολλά λευκοκύτταρα.

Η *L-σελεκτίνη*, επί των λεμφοκυττάρων, συμβάλλει επίσης στην αρχική αλληλεπίδραση μεταξύ λευκοκυττάρων και ενδοθηλίου στην περιοχή της βλάβης. Οι αρχικές αυτές αλληλεπιδράσεις είναι παροδικές και αναστρέψιμες, επιτρέποντας στα λευκοκύτταρα να κυλίσουν πάνω στην επιφάνεια του ενδοθηλίου και οδηγώντας σε δευτερογενείς αντιδράσεις, που περιλαμβάνουν επιπρόσθετες ομάδες μορίων προσκόλλησης, της υπερικογένειας των ανοσοσφαιρινών (Igs) και της οικογένειας των ιντεγκρινών.

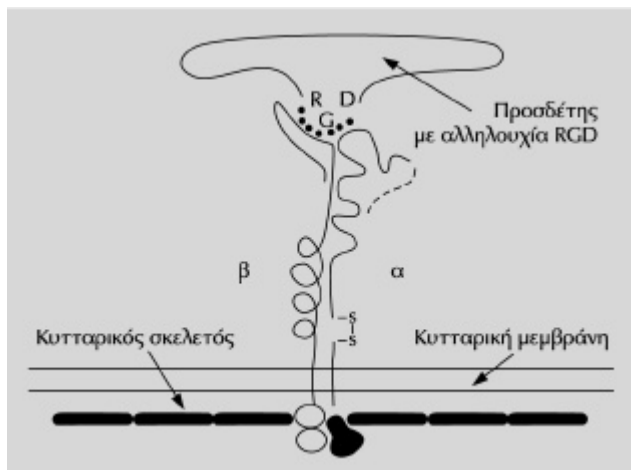
Τα περισσότερα μέλη της *υπεροικογένειας των ανοσοσφαιρινών* είναι μεμβρανικές πρωτεΐνες, που αποτελούνται από εξωκυτταρική μοίρα με Ig πεδία, διαμεμβρανική μοίρα από υδρόφοβα αμινοξέα και ενδοκυτταρική μοίρα, που δεν εμφανίζει ομολογία μεταξύ των διαφόρων μελών. Τα κυριότερα μέλη της υπερικογένειας αυτής είναι οι VCAM-1 (vascular adhesion molecule-1), ICAM-1 (intercellular cell adhesion molecule-1) και PECAM-1 (CD31) (platelet-endothelial adhesion molecule-1). Ο ICAM-1 εκφράζεται σε χαμηλά επίπεδα πάνω στα εν ηρεμία ενδοθηλιακά κύτταρα, αυξάνεται όμως με την επίδραση των προφλεγμονωδών κυτταροκινών φθάνοντας στο μέγιστο της έκφρασής του σε 16–24 ώρες, ενώ ο VCAM-1 παράγεται μέσα σε 6–12 ώρες.³⁸ Ο υποδοχέας του ICAM-1 είναι οι CD11a/CD18B₂ (LFA-1) ιντεγκρίνες πάνω στα λεμφοκύτταρα και οι CD11b/CD18B₂ ιντεγκρίνες πάνω στα μονοκύτταρα και στα ουδετερόφιλα. Για τον VCAM-1, ο αντίστοιχος υποδοχέας είναι μια β₁-ιντεγκρίνη (CD29/CD49d-VLA-4-), που βρίσκεται πάνω στα μονοκύτταρα. Οι αντιδράσεις VLA-

4/VCAM-1 και LFA-1/ICAM-1 ρυθμίζουν την κίνηση των λευκοκυττάρων από τα αιμοφόρα αγγεία στο σημείο της φλεγμονής.³⁹

Οι *ιντεγκρίνες* είναι διαμεμβρανικοί υποδοχείς που συνδέονται με τον κυτταροσκελετό και, εκτός από την προσκολλητική τους ιδιότητα, έχουν την ικανότητα να μεταφέρουν μηνύματα από τον εξωκυτταρικό χώρο στον ενδοκυτταρικό και αντιστρόφως. Είναι ετεροδιμερείς πρωτεΐνες, που αποτελούνται από δύο αλυσίδες, την α και τη β. Έχουν χαρακτηριστεί διάφοροι τύποι α και β αλυσίδων και έχουν περιγραφεί πάνω από 20 ιντεγκρίνες, που ταξινομούνται σε 8 υποομάδες βάσει του τύπου της β-αλυσίδας. Το εξωτερικό τμήμα της ιντεγκρίνης ενώνεται με συνδετικά μόρια (συνδέτες, ligands), με τα οποία παραλαμβάνουν το «μήνυμα» που θα διαβιβάσουν. Οι συνδέτες βρίσκονται μέσα σε μόρια της εξωκυτταρικής ουσίας (φιμπρονεκτίνη, λαμίνη κ.λπ.) ή στη μεμβράνη του κυττάρου. Συχνά, σε κάποιο σημείο των προσδετών υπάρχει η αλληλουχία αμινοξέων αργινίνη-γλυκίνη-ασπαρτικό οξύ (R-G-D) (εικ. 5). Οι ιντεγκρίνες, εκτός από τις προσκολλητικές ιδιότητες, θεωρείται ότι επιτελούν και άλλες λειτουργίες, όπως την κυτταρική κίνηση, τον πολλαπλασιασμό, τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (απόπτωση), την επέκταση ενός ιστού και την έκφραση των γονιδίων.⁴⁰ Έχει δειχθεί ότι πρωτεϊνικά ομόλογα των ιντεγκρινών που περιέχουν την αλληλουχία RGD μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη θεραπεία των νεοπλασμάτων.⁴¹ Τα κυριότερα μέλη της οικογένειας αυτής είναι οι LFA-1, MAC-1 και p150, 95 (πίν. 2).

5. ΜΕΣΟΛΑΒΗΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ – Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ

Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των εμπλεκόμενων στους μηχανισμούς βλάβης του εγκεφαλικού ιστού κυττάρων



Εικόνα 5. Η δομή του μορίου της ιντεγκρίνης $\alpha\beta\gamma$.

προάγονται και ευοδώνονται χάρη στη δράση ορισμένων μεσολαβητικών ουσιών, των γνωστών κυτταροκινών. Η παραγωγή ορισμένων κυτταροκινών, όπως ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων- α (TNF- α) και η ιντερλευκίνη-1 β (IL-1 β), αυξάνεται μέσα σε λίγες ώρες μετά την έναρξη της μόνιμης ή της παροδικής τοπικής ισχαιμίας.⁴² Η παραγωγή των κυτταροκινών αυτών ακολουθείται από μια δευτερογενή αύξηση ορισμένων άλλων κυτταροκινών, όπως της ιντερλευκίνης-6 (IL-6) και της ιντερλευκίνης-8 (IL-8). Όλες αυτές οι κυτταροκίνες συνεργάζονται αρμονικά με άλλους φλεγμονώδεις παράγοντες, όπως οι προσταγλανδίνες και οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, προκειμένου να δραστηριοποιήσουν τη μετανάστευση των λευκοκυττάρων στην περιοχή της ιστικής βλάβης.⁴³

Η *ιντερλευκίνη-1 β* (IL-1 β), ένα πολυπεπίδιο μοριακού βάρους 17 kDa, παράγεται κυρίως από τα ενεργοποιημένα μακροφάγα, αλλά επίσης από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα αστροκύτταρα, τους ινοβλάστες και τους νευρώνες. Επάγει την παραγωγή προσταγλανδινών, κολλαγενάσης, φωσφολιπάσης A_2 , χημειοτακτικών κυτταροκινών, όπως IL-8, και άλλων φλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως TNF- α , IL-6, παραγόντων διέγερσης αποικιών (CSFs), καθώς και την παραγωγή ενεργών μεταβολιτών οξυγόνου⁴⁴ (πίν. 3).

Έχουν διαπιστωθεί δύο είδη υποδοχέων της IL-1 (τύπος I και II). Ο πρώτος έχει μοριακό βάρος 80 kDa και βρίσκεται πάνω σε κύτταρα, όπως T-λεμφοκύτταρα, ινοβλάστες, κερατινοκύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα, κύτταρα αρθρικής κοιλότητας, χονδροκύτταρα και μονοκύτταρα του αίματος. Ο υποδοχέας αυτός είναι μια ανοσοσφαιρίνη, που αποτελείται από το εξωκυττάριο, το διαμεμβρανικό και το ενδοπλασματικό τμήμα και έχει την ικανότητα να εσωτερικοποιεί την IL-1. Η IL-1, μετά τη σύνδεσή της με τον υποδοχέα αυτό, δεν αποδομείται και ανιχνεύεται μετά από μερικές ώρες στο πυρηνικό τμήμα

Πίνακας 3. Βιολογικές επιδράσεις της IL-1.

Ανοσολογικές

Ενεργοποίηση των T-λεμφοκυττάρων: Συνεργασία με την IL-6 για σύνθεση IL-2

Αύξηση της σύνθεσης υποδοχέων της IL-2

Ενεργοποίηση των B-λεμφοκυττάρων μέσω IL-6: Συνεργασία με την IL-4

Ενεργοποίηση κυττάρων φυσικών φονεών: Συνεργασία με την IL-2 και την IFN

Προφλεγμονώδεις

Πυρετός, υπνηλία, ανορεξία, απελευθέρωση νευροπεπτιδίων

Έκφραση γονιδίων υπεύθυνων για παραγωγή συμπληρώματος

Καταστολή σύνθεσης κυτοχρώματος P450

Ενεργοποίηση ενδοθηλιακών κυττάρων

Ουδετεροφιλία

Αυξημένη παραγωγή μορίων προσκόλλησης

Υπόταση, καταστολή μυοκαρδίου, shock, θάνατος

Διήθηση ιστών με ουδετερόφιλα

Επαναχρησιμοποίηση αμινοξέων, υπερλιπιδαιμία

Κυτταροτοξικότητα έναντι β -κυττάρων παγκρέατος

Διέγερση γονιδίων λιποξυγενάσης και κυκλοοξυγενάσης

Σύνθεση κολλαγενάσης και κολλαγόνων: Ενεργοποίηση οστεοβλαστών

Προστατευτικές επιδράσεις σε κύτταρα ή σε παθολογικές καταστάσεις

Ευλογία

Βακτηριακές λοιμώξεις

Θανατηφόρος ακτινοβολία

Πρώιμο αρχέγονο αιμοποιητικό κύτταρο (stem cell)

Απελευθέρωση ισταμίνης. Φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου

του κυττάρου.⁴⁵ Ο υποδοχέας τύπου II της IL-1 έχει μοριακό βάρος 60 kDa και βρίσκεται πάνω στην επιφάνεια B-λεμφοκυττάρων, ουδετεροφίλων πολυμορφοπυρρήνων και κυττάρων του μυελού των οστών. Η διαφορά του από τον υποδοχέα τύπου I αφορά στη συνδετική τους ικανότητα. Έτσι, ενώ το 60% της IL-1 που συνδέεται με τον υποδοχέα τύπου I εσωτερικοποιείται μέσα σε 5 min και παραμένει μέσα στο κύτταρο για 12 ώρες, οι υποδοχείς τύπου II διατηρούν την IL-1 πάνω στην επιφάνειά τους για διάστημα μεγαλύτερο από 60 min, ενώ εσωτερικοποιούν πολύ μικρό ποσοστό.⁴⁶

Μόρια μεγέθους όπως αυτό της IL-1 δεν είναι δυνατό να διέλθουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Ωστόσο, υποδοχείς της IL-1 έχουν διαπιστωθεί σε εγκεφαλικά κύτταρα, ενώ τα νευρογλοιακά κύτταρα και πιθανόν τα νευρικά κύτταρα συνθέτουν IL-1.⁴⁷

Ο *παράγοντας νέκρωσης των όγκων- α* (TNF- α) παράγεται κυρίως από τα μονοκύτταρα του αίματος και τα μακροφάγα των ιστών, αλλά και από αστροκύτταρα,

νευρώνες, λεία μυϊκά κύτταρα και ινοβλάστες. Η λεμφοκίνη αυτή, η οποία «επιβίωσε» για εκατομμύρια χρόνια σε πολλά είδη ζώων,⁴⁸ είναι μια πλειοτροπική πολυπεπτιδική ορμόνη με ποικίλες βιολογικές ιδιότητες, που ομοιάζουν με αυτές της IL-1β. Έτσι, η δράση της συνεπάγεται την ανάπτυξη προθρομβωτικών/προπηκτικών φαινομένων στο αγγειακό ενδοθήλιο, ενώ, παράλληλα, αυξάνει την έκφραση των μορίων προσκόλλησης των ενδοθηλιακών κυττάρων. Επιπρόσθετα, επάγει την παραγωγή κυτταροκινών από άλλα κύτταρα, όπως των IL-1β, IL-6, CSFs και του ίδιου του TNF-α.⁴⁹ Μπορεί επίσης να επηρεάσει την ανοσιακή απάντηση, ρυθμίζοντας την έκφραση των αντιγόνων του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC) τάξης I και II σε έναν αριθμό διαφορετικών τύπων κυττάρων.⁴³ Η δράση της επεκτείνεται και στο μυελό των οστών, όπου προάγει τη διαφοροποίηση ορισμένων μυελικών σειρών *in vitro*, όπως και την παραγωγή του GM-CSF (παράγοντας που διεγείρει την παραγωγή αποικιών των ουδετεροφίλων και των μακροφάγων).

Η συνδυασμένη δράση του TNF-α και της IL-1β έχει ως αποτέλεσμα τη μετανάστευση των φλεγμονωδών κυττάρων στην περιοχή της ιστικής βλάβης και την πρόοδο της φλεγμονώδους διαδικασίας (πίν. 4). Μελέτες έχουν δείξει ότι η έκφραση του mRNA για την παραγωγή των TNF-α και IL-1β ανιχνεύεται εντός 1 ώρας μετά από εστιακή ισχαιμία, κορυφώνεται μέσα σε 12 ώρες και μειώνεται ταχέως τις επόμενες 12–48 ώρες.^{3,50}

Ο κεντρικός ρόλος των IL-1β και TNF-α στην ανάπτυξη της φλεγμονώδους αντίδρασης μετά από οξεία εγκεφαλική ισχαιμία έχει καταδειχθεί από μια σειρά πειραματικών δεδομένων. Έτσι, χορήγηση ανταγωνιστών των IL-1β και TNF-α είχε ως αποτέλεσμα νευρωνική προστασία σε πειραματικά μοντέλα εστιακής εγκεφαλικής ισχαιμίας.^{44,51} Η εντός των κοιλιών του εγκεφάλου έγχυση του TNF-α προ της μόνιμης και της παροδικής απόφραξης της μέσης εγκεφαλικής αρτηρίας οδηγούσε σε επιδείνωση του νευρολογικού ελλείμματος και σε αύξηση του μεγέθους του εμφράκτου. Αντιθέτως, ο αποκλεισμός του ενδογενούς TNF-α, είτε με αντι-TNF-α μονοκλωνικά αντισώματα είτε με διαλυτούς TNF-υποδοχείς, συνεπαγόταν ελάττωση της έκτασης του εμφράκτου.⁵² Ομοίως, παρατηρήθηκε ότι μετά από έγχυση IL-1β στην πλάγια κοιλία του εγκεφάλου κατά τη διάρκεια παροδικής ισχαιμίας σε ποντικούς αυξανόταν το μέγεθος του εμφράκτου, ενώ η ενδοκοιλιακή έγχυση ανταγωνιστών των IL-1 υποδοχέων (IL-1ra) το μείωνε εντυπωσιακά, σε ποσοστό μεγαλύτερο από 60%, όταν χρησιμοποιήθηκε προ και μετά την απόφραξη της μέσης εγκεφαλικής αρτηρίας σε ποντικούς.⁵³ Παρόμοια νευρωνική προστα-

Πίνακας 4. Σύγκριση επιδράσεων IL-1, TNF και IL-6.

Βιολογική ιδιότητα	IL-1	TNF	IL-6
Ενδογενής πυρετογόνος δράση	+	+	+
Ύπνος βραδέων κυμάτων	+	+	-
Πρωτεΐνες απάντησης οξείας φάσης	+	+	+
Ενεργοποίηση T-λεμφοκυττάρων	+	+	+
Ενεργοποίηση B-λεμφοκυττάρων	+	+	+
Σύνθεση Ig από τα B-λεμφοκύτταρα	-	-	+
Πολλαπλασιασμός ινοβλαστών	+	+	-
Ενεργοποίηση αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων	+	-	+
Μη ειδική αντίσταση στη λοίμωξη	+	+	+
Ακτινοπροστασία	+	+	-
Έκφραση γονιδίων κυκλοοξυγενάσης	+	+	-
Ενεργοποίηση κυττάρων αρθρικής κοιλότητας	+	+	-
Ενεργοποίηση ενδοθηλιακών κυττάρων	+	+	-
Σύνδρομο shock	+	+	-
Διέγερση παραγωγής IL-1, TNF, IL-8	+	+	-
Διέγερση παραγωγής IL-6	+	+	-

σία έχει αναφερθεί όταν IL-1ra χορηγήθηκαν περιφερικά σε εστιακή ισχαιμία.⁵⁴

Η *ιντερλευκίνη-8* (IL-8) επάγεται από τη δράση του TNF-α και της IL-1β ταχέως, εντός ολίγων λεπτών, μετά την έναρξη της ισχαιμίας. Η IL-8 ενεργοποιεί, με τη σειρά της, τα μόρια προσκόλλησης πάνω στα λευκοκύτταρα επιτρέποντας αυξημένη προσκόλληση με το ενδοθήλιο, διευρύνοντας, έτσι, τη φλεγμονώδη απάντηση.⁵⁵ Παράγεται από μονοκύτταρα, ινοβλάστες και ενδοθηλιακά κύτταρα και όχι μόνο προάγει την προσκόλληση των λευκοκυττάρων, αλλά επίσης ενεργοποιεί την παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου στα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρνα. Σε ασθενείς με οξύ αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο βρέθηκε αυξημένη έκφραση του mRNA της IL-8 στα ουδετερόφιλα την πρώτη εβδομάδα μετά την έναρξη των συμπτωμάτων, υποδηλώνοντας, κατ' αυτόν τον τρόπο, έναν πρώιμο όσο και έναν παρατεταμένο μηχανισμό ενεργοποίησης των λευκοκυττάρων.⁵⁶ Επίσης, αποδείχθηκε ότι η χορήγηση αντισώματος εναντίον της IL-8 σε κουνέλια που υποβλήθηκαν σε εγκεφαλική ισχαιμία είχε ως αποτέλεσμα ελάττωση του μεγέθους του εμφράκτου,⁵⁷ γεγονός που επίσης αποδεικνύει τον κεντρικό ρόλο της χημειοτακτικής απάντησης στη βλάβη μετά από οξεία ισχαιμία.

Η *ιντερλευκίνη-6* (IL-6), μια πλειοτροπική κυτταροκίνη μοριακού βάρους 21–28 kDa, διαδραματίζει κεντρικό ρόλο σε προστατευτικούς μηχανισμούς, όσον αφορά στη ρύθμιση της ανοσοαπάντησης, στην αιμοποίηση και στην απάντηση οξείας φάσης (εικ. 6). Η IL-6 φαίνεται να είναι

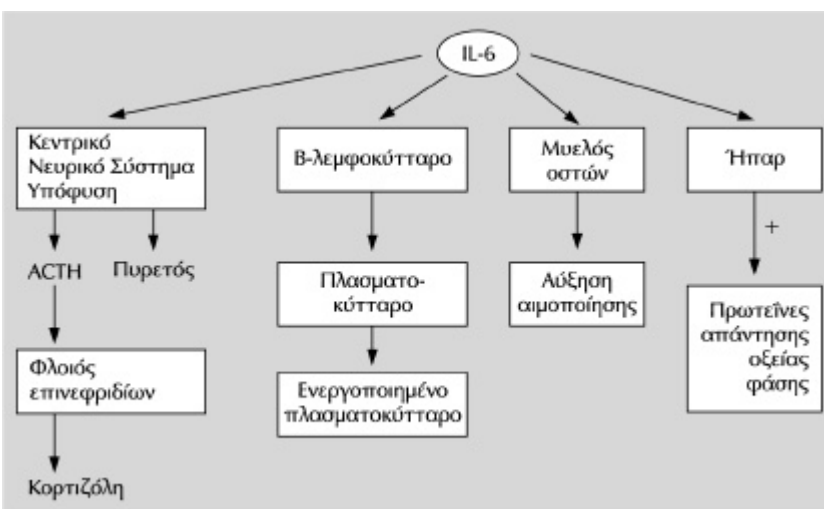
ο ισχυρότερος διεγέρτης παραγωγής πρωτεϊνών οξείας φάσης από τα ηπατοκύτταρα. Νόσοι που συνοδεύονται από ιδιαίτερα αυξημένα επίπεδα IL-6 χαρακτηρίζονται και από έντονη απάντηση οξείας φάσης. Έχει επίσης παρατηρηθεί ότι οι νόσοι που χαρακτηρίζονται από αυξημένα επίπεδα IL-6 απαντούν πολύ καλά στα κορτικοειδή.⁵⁸ Η ικανότητά της να αναστέλλει την παραγωγή του TNF υποδηλώνει ότι η αυξημένη παραγωγή της από τη δράση του TNF μπορεί να οδηγήσει σε μείωση των τοξικών επιδράσεων του τελευταίου.⁵⁹ Δρα στον υποθαλαμο-υποφυσιακό άξονα, με αποτέλεσμα αύξηση της παραγωγής ACTH και κορτικοειδών, τα οποία έχουν θετική επίδραση στην απάντηση οξείας φάσης και ταυτόχρονα επιδρούν ανασταλτικά στην παραγωγή IL-6.⁶⁰ Η παραγωγή της σε πειραματικά μοντέλα οξείας ισχαιμικής εγκεφαλικής βλάβης έχει σημειωθεί 3 περίπου ώρες μετά την έναρξη της βλάβης και παραμένει υψηλή μέχρι 96 ώρες αργότερα.⁶¹

6. ΑΝΟΣΙΑ ΚΑΙ ΦΛΕΓΜΟΝΗ – ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΩΝ – ΠΡΟΣΚΟΛΛΗΣΗ ΤΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΟΠΥΡΗΝΩΝ ΣΤΟ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟ

Η διαδικασία της κυτταρικής προσκόλλησης, της κυτταρικής ενεργοποίησης και μετανάστευσης συνεπάγεται αλληλεπίδραση μεταξύ της έκφρασης των μορίων προσκόλλησης από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, της ενεργοποίησης των λευκοκυττάρων και της τοπικής δραστηριότητας των κυτταροκινών. Η παρουσία των κυτταροκινών IL-1, TNF-α και του TGF-β διεγείρει την ενδογενή παραγωγή IL-1 και IL-6 από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και επάγει την παραγωγή IL-8. Παράγοντες όπως οι IL-8 και PAF ενεργοποιούν τις ιντεγκρίνες, προκαλώντας μέσα σε λίγα λεπτά ενεργό αναδιάταξη των αλυσίδων των μορίων προσκόλλησης, με αποτέλεσμα μια δραστική

διαμόρφωση του μορίου και τελικά ενεργοποίησή τους.⁶² Όταν τα ενδοθηλιακά κύτταρα διεγείρονται, είτε από κυτταροκίνες είτε από θρομβίνη, εκφράζουν το μόριο προσκόλλησης ενδοθηλιακών κυττάρων-λευκοκυττάρων (ELAM-1) και το διακυτταρικό μόριο προσκόλλησης ICAM-1. Το αγγειακό μόριο προσκόλλησης VCAM-1 αποτελεί μια άλλη επαγωγίμη ανοσοσφαιρίνη της ενδοθηλιακής επιφάνειας, που δεσμεύει λεμφοκύτταρα και μονοκύτταρα. Η σελεκτίνη ELAM-1 εκφράζεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα εντός ωρών και δεσμεύει τόσο τα πολυμορφοπύρρηνα όσο και τα μονοκύτταρα.

Η έκφραση της ICAM-1 της οικογένειας των ανοσοσφαιρινών διευκολύνει τη συγκόλληση τόσο των πολυμορφοπυρήνων όσο και των λεμφοκυττάρων. Ένα δεύτερο μόριο της σειράς αυτής, το ICAM-2, το οποίο είναι μερικώς ομόλογο προς το ICAM-1, συνεπάγεται την προσκόλληση των T και B-λεμφοκυττάρων στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Τα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα παράγουν επίσης έναν ενισχυτικό παράγοντα, τον παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF), ο οποίος προάγει την ταχεία έκφραση των ανωτέρω μορίων προσκόλλησης. Γενικώς, τα ενδοθηλιακά κύτταρα εκφράζουν μόνο το αντιγόνο του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας τάξης I. Αν και το αντιγόνο του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας τάξης II δεν βρίσκεται στο ενδοθήλιο, η έκφρασή του επάγεται από ενεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα, ιντερφερόνη-γ και φυτοαιμοσυγκολλητίνη.⁶³ Από τη στιγμή που τα ενδοθηλιακά κύτταρα θα εκφράσουν τα αντιγόνα τάξης II, συμπεριφέρονται ως αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα και είναι δυνατό να επάγουν απάντηση από τα T-λεμφοκύτταρα. Τελικά, τα διεγερμένα ενδοθηλιακά κύτταρα εκφράζουν στην επιφάνειά τους το μόριο GMP-140, έναν υποδοχέα που κατά προτίμηση συνδέει τα αιμοπετάλια. Η δέσμευση των αιμοπεταλίων αυξάνει τον τοπικό διαθέσιμο PAF



Εικόνα 6. Βιολογικές επιδράσεις της IL-6.

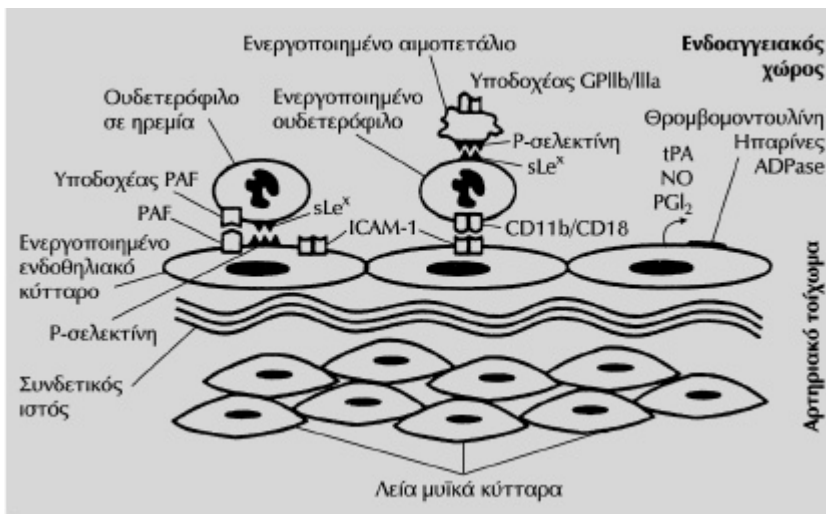
και περαιτέρω επιταχύνει την έκφραση από τα ενδοθηλιακά κύτταρα των μορίων προσκόλλησης.⁶⁴

Η έκφραση των μορίων αυτών, όπως έχει ήδη αναφερθεί, ενέχει λίαν σημαντικό ρόλο στην ευόδωση της φλεγμονώδους ανοσιακής απάντησης. Ιδιαίτερα η προσκόλληση των πολυμορφοκυττάρων στο αρτηριακό τοίχωμα προϋποθέτει την ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων και την έκφραση της P-σελεκτίνης στην κυτταρική τους μεμβράνη. Η P-σελεκτίνη βρίσκεται αποθηκευμένη σε ενδοκυττάρια κοκκία, γνωστά ως σωματίδια Weibel-Palade, και πολύ γρήγορα μεταφέρεται στην κυτταρική μεμβράνη όταν τα ενδοθηλιακά κύτταρα ενεργοποιηθούν από διάφορους αγωνιστές, όπως η θρομβίνη, η ισταμίνη ή οι ελεύθερες ρίζες O_2 .⁶⁵ Τα πολυμορφοκύτταρα προσκολλώνται ασθενώς στα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα διαμέσου της P-σελεκτίνης και αυτή η χαλαρή, αρχικά, προσκόλλησή τους επιτρέπει να «κυλούν» (rolling) πάνω στο ενδοθήλιο.⁶⁶ Σ' αυτή την αλληλεπίδραση συμβάλλουν επίσης η L-σελεκτίνη, που εκφράζεται στην κυτταρική μεμβράνη των πολυμορφοκυττάρων, και η E-σελεκτίνη, που εκφράζεται στα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η χαλαρή προσκόλληση των πολυμορφοκυττάρων στο ενεργοποιημένο ενδοθήλιο τα εκθέτει σε ισχυρούς ενεργοποιητές τους, όπως ο PAF, και σε χημειοκίνες, όπως η ιντερλευκίνη-8, που παράγονται από τα ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα. Ο PAF, μετά την προαγωγή του, δεν εκκρίνεται, αλλά παραμένει συνδεδεμένος στην κυτταρική μεμβράνη των ενδοθηλιακών κυττάρων, ενεργοποιώντας τα πολυμορφοκύτταρα διαμέσου του ειδικού υποδοχέα του, που υπάρχει στη μεμβράνη των κυττάρων αυτών.^{67,68} Με αυτή τη δράση του PAF ενεργοποιούνται τα πολυμορφοκύτταρα, τα οποία, μεταξύ των

άλλων, εκφράζουν στην κυτταρική τους μεμβράνη τη β_2 -ιντεγκρίνη C11b/CD18 (ή MAC-1). Η CD11b/CD18 των πολυμορφοκυττάρων συνδέεται στη συνέχεια με τον ενδοθηλιακό υποδοχέα ICAM-1, με αποτέλεσμα τη σταθεροποίηση της προσκόλλησής τους στο ενδοθήλιο (εικ. 7). Η έκφραση και λειτουργία του ICAM-1 στο αγγειακό ενδοθήλιο αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμα της φλεγμονώδους ανοσιακής απάντησης και μεσολαβεί στη διαδικασία αλληλεπίδρασης λευκοκυττάρων-ενδοθηλιακών κυττάρων μετά από προηγηθείσα δέσμευση ιντεγκρινών.^{69,70} Με την ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων και τη δραστική διαμόρφωση του μορίου των ιντεγκρινών, η L-σελεκτίνη εκδηλώνει πλήρως τις λειτουργίες της, ενισχύοντας τη σταθερή αλληλεπίδραση λευκοκυττάρων-ενδοθηλίου και οδηγώντας, στη συνέχεια, στη μετανάστευση των λευκοκυττάρων και στην περαιτέρω εξέλιξη και επίταση των φλεγμονωδών φαινομένων.^{62,71}

7. ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΠΑΡΕΜΒΑΣΕΙΣ

Οι γνώσεις αυτές έδωσαν τη δυνατότητα για το σχεδιασμό μιας πιο ορθολογιστικής θεραπευτικής προσέγγισης της εγκεφαλικής ισχαιμίας. Έτσι, έχουν χρησιμοποιηθεί σε πειραματόζωα παράγοντες, οι οποίοι αποκλείουν είτε τα μόρια προσκόλλησης των ενδοθηλιακών κυττάρων, είτε τους συνδέτες στην επιφάνεια των λευκοκυττάρων. Η χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων έναντι των CD11b και CD18, που είναι υπομονάδες της ιντεγκρίνης MAC-1, είχε ως αποτέλεσμα σημαντική μείωση της έκτασης του εμφράκτου σε μοντέλα παροδικής ισχαιμίας εγκεφάλου ποντικών και νωπιαίου μυελού κουνελιών.^{72,73} Επίσης, μονοκλωνικά αντισώματα έναντι του ICAM-1 παρείχαν προστασία έναντι παροδικής ισχαιμίας σε ποντικούς.⁷⁴ Σε



Εικόνα 7. Προσκόλληση των ουδετεροφίλων στο ενεργοποιημένο ενδοθήλιο και αλληλεπίδραση με τα αιμοπετάλια.

άλλη μελέτη, όμως, διαπιστώθηκε ότι η προστασία αυτή ίσχυε μόνο στις περιπτώσεις παροδικής ισχαιμίας της μέσης εγκεφαλικής αρτηρίας, που ακολουθείτο από επαναιμάτωση, αλλά όχι και στις περιπτώσεις μόνιμης απόφραξης του αγγείου.⁷⁵ Πρόσφατες μελέτες ενισχύουν αυτά τα δεδομένα. Πειραματικά μοντέλα εγκεφαλικής ισχαιμίας ακολουθούμενης από επαναιμάτωση σε ποντίκια με έλλειψη του γονιδίου για το CD18 παρείχαν επαρκή εγκεφαλική προστασία. Τα αποτελέσματα όμως αυτά δεν παρατηρήθηκαν σε ανάλογα πειραματικά μοντέλα, τα οποία είχαν υποβληθεί σε μόνιμη απόφραξη της μέσης εγκεφαλικής αρτηρίας.⁷⁶ Ο συνδυασμός των θεραπευτικών αυτών στρατηγικών με θρομβολυτική θεραπεία, με στόχο την επανεγκατάσταση της αιμάτωσης, θα μπορούσε να αυξήσει τις δυνατότητες για μια πιο αποτελεσματική αντιμετώπιση της εγκεφαλικής ισχαιμίας στις περιπτώσεις αυτές. Οι τελευταίες πειραματικές εργασίες στέλλουν ήδη τα πρώτα αισιόδοξα μηνύματα.⁷⁷

Πέρα όμως από το γεγονός αυτό, η θεραπευτική χρήση των προαναφερθέντων μέσων φαίνεται να μη στερείται ανεπιθύμητων ενεργειών κατά την εφαρμογή τους στον άνθρωπο. Έτσι, η χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων, τα οποία παρεμποδίζουν τη μετανάστευση των φλεγμονωδών κυττάρων στην περιοχή της εγκεφαλικής βλάβης, παραδόξως μπορεί να προκαλέσει μια δευτερογενή φλεγμονώδη απάντηση. Οι ερμηνείες που δίνονται στο φαινόμενο αυτό είναι πολλές. Ένα ανθρώπινο αντισώμα έναντι του χορηγηθέντος ετερολόγου αντισώματος

μπορεί να αναπτυχθεί ως απάντηση στο ερέθισμα από την ξένη πρωτεΐνη, όπως και μια μη ειδική ενεργοποίηση του συμπληρώματος.^{78,79} Μηχανισμοί «αντισωματο-εξαρτώμενης κυτταροτοξικότητας με κύτταρα» (ADCC) φαίνεται επίσης να υπεισέρχονται, προκαλώντας την αναγνώριση από τα φυσικά κύτταρα-φονείς (natural killer cells, NK) συμπλέγματος μορίων IgG συνδεδεμένων με αντιγόνα στην επιφάνεια των κυττάρων.⁸⁰ Ακόμα, τα ενεργοποιημένα λευκοκύτταρα, τα οποία εκφράζουν μόρια προσκόλλησης ICAM-1 στην επιφάνειά τους, θα μπορούσαν να επάγουν μια κατάσταση γνωστή ως οξειδωτική έκρηξη (oxidative burst) με τη σύνδεση IgG αντισωμάτων σε περισσότερα από ένα μόρια προσκόλλησης,⁸¹ ενώ ο αποκλεισμός με αντισώματα των μορίων προσκόλλησης ICAM-1 μπορεί να προκαλέσει μια παλίνδρομη φλεγμονώδη απάντηση μέσω της έκφρασης και άλλων μορίων προσκόλλησης.⁸²

Παρά τις αντιξοότητες αυτές, οι οποίες δυσχεραίνουν τη χρησιμοποίηση των σύγχρονων αυτών θεραπευτικών μέσων στην αντιμετώπιση της οξείας εγκεφαλικής ισχαιμίας στον άνθρωπο, πιστεύεται ότι ανοίγεται ένας ελπιδοφόρος ορίζοντας. Η ακόμη καλύτερη κατανόηση των φλεγμονωδών και ανοσολογικών μηχανισμών και η υπερπήδηση των εμποδίων στην πρακτική εφαρμογή των θεραπευτικών δυνατοτήτων, που απορρέουν από την κατανόηση αυτή, ασφαλώς προσφέρουν γόνιμο έδαφος για μια πλέον ορθολογιστική αντιμετώπιση της βλάβης από οξεία εγκεφαλική ισχαιμία.

ABSTRACT

Inflammatory response after acute stroke

K. HADJIGOGOS

1st Department of Internal Medicine, "G. Gennimatas" General Hospital, Thessaloniki, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2000, 17(5):491-505

Increasingly, data from animal models of cerebral ischemia and preliminary human studies show that inflammatory mechanisms play an important role in secondary neuronal injury after acute cerebral ischemia. Ischemia followed by reperfusion rapidly leads to the expression of inflammatory cytokines, especially TNF- α and IL-1 β , which stimulate a cascade of events involving local endothelial cells, neurons, astrocytes, and perivascular cells. This initial release of cytokines is followed by a secondary release of cytokines such as IL-6 and IL-8, an increase in components of the coagulation system, and an up-regulation of cell adhesion molecules. This results in an overabundant recruitment of leucocytes which can decrease perfusion by blocking vessels directly, releasing vasoconstricting substances and killing endothelial cells. Leucocytes cross into the brain, where they degranulate, release cytotoxic enzymes such as myeloperoxidase, and generate oxygen-derived free radicals. Monoclonal antibodies against leucocyte adhesion molecules have been shown to reduce infarct volume in animal

models of ischemia-reperfusion, but there are a number of constraints to the application of this therapeutic approach in human acute cerebral ischemia. It is widely expected that increased understanding of the inflammatory and immunologic mechanisms relevant to acute cerebral ischemia will offer more rational and hopeful treatment for acute stroke.

Key words: Adhesion molecules, Brain ischemia/reperfusion, Cytokines, Inflammation

Βιβλιογραφία

- HALLENBECK JM. Inflammatory reactions at the blood-endothelial interface in acute stroke. *Adv Neurol* 1996, 71:281-297
- NAWROTH PP, STERN DM. Modulation of endothelial cell hemostatic properties by tumor necrosis factor. *J Exp Med* 1986, 13: 740-745
- LIU T, CLARK RK, McDONNELL PC, YOUNG PR, WHITE RF, BARONE F ET AL. Tumor necrosis factor-alpha expression in ischemic neurons. *Stroke* 1994, 25:1481-1488
- NAWROTH PP, HANDLEY DA, ESMON CT, STERN DM. Interleukin-1 induces endothelial cell procoagulant while suppressing cell-surface anticoagulant activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986, 83: 3460-3464
- ADAMS DH, SHAW S. Leucocyte endothelial interactions and regulation of leucocyte migration. *Lancet* 1994, 343:831-836
- HÄRTL R, SCHÜRER L, SCHMID-SCHÖNBEIN GW, DEL ZOPPO GJ. Experimental antileucocyte intervention in cerebral ischemia. *Cereb Blood Flow Metab* 1996, 16:1108-1119
- ΠΑΠΑΓΕΩΡΓΙΟΥ ΚΘ ΚΑΙ ΣΥΝ. *Νευρολογία*. Β' τόμος. Εκδόσεις ΜΓ Παρισιάνου, Αθήνα, 1993:109-113
- TIBOR K, SIESJÖ BO K. Calcium-related damage in ischemia. *Life Sci* 1996, 59:357-369
- ZIMMERMAN BJ, GRANGER DN. Reperfusion injury. *Surg Clin North Am* 1992, 72:65-68
- McMILLEN MA, HURIBAL M, SUMPIO B. Common pathway of endothelial-leucocyte interaction in shock, ischemia, and reperfusion. *Am J Surg* 1993, 166:557-562
- MEISEL SR, SHAPIRO H, RADNAY J, NEUMAN Y, KHASKIA AR, GRUENER N ET AL. Increased expression of neutrophil and monocyte adhesion molecules LFA-1 and MAC-1 and their ligand ICAM-1 and VLA-4 throughout the acute phase of myocardial infarction: possible implications for leucocyte aggregation and microvascular plugging. *J Am Coll Cardiol* 1998, 31:120-125
- LAMAIDA N, CAPUANO V, BIFULCO M, PALMA M, DE MARTINO M. Damage from reperfusion: no reflow phenomenon. *Minerva Cardioangiolog* 1993, 41:469-474
- ALLEN DM, CHEN LE, SEABER AV, URBANIAK JR. Pathophysiology and related studies of the no reflow phenomenon in skeletal muscle. *Clin Orthop* 1995, 314:122-123
- CARDEN DL, KORTHUIS RJ. Role of neutrophilic elastase postischemic granulocyte extravasation and microvascular dysfunction in skeletal muscle. *FASEB J* 1990, 49:A1248
- SELLKE FW, FRIEDMAN M, DAI HB, SHAFIQUE T, SCHOEN FJ, WEINTRAUB RM ET AL. Mechanisms causing coronary microvascular dysfunction following crystalloid cardioplegia and reperfusion. *Cardiovasc Res* 1993, 27:1925-1932
- BECKMAN JS, BECKMAN TW, CHEN J, MARSHALL PA, FREEMAN BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990, 87:1620-1624
- GUO L, OGAMO A, OU Z, SHINOZUKA T, NAKAGAWA Y. Preferential formation of the hydroperoxide of linoleic acid in choline glycerophospholipids in human erythrocytes membrane during peroxidation with an azo initiator. *Free Radical Biol Med* 1995, 18:1003-1012
- DAVIES MG, PER-OTTO-HAGEN. The vascular endothelium. A new horizon. *Ann Surg* 1993, 218:593-609
- MONTINE TJ, AMARNATH V, MARTIN ME, STRITTMATTER WJ, GRAHAM DG. E-4-hydroxy-2-nonenal is cytotoxic and cross-links cytoskeletal proteins in P19 neuroglial cultures. *Am J Pathol* 1996, 148: 89-93
- COYLE JT, PUTTFARCKEN P. Oxidative stresses, glutamate and neurodegenerative disorders. *Science* 1993, 262:689-695
- ΠΑΜΑΡΕΛΛΟΣ-ΜΠΟΥΡΜΠΟΥΛΗΣ ΕΙ, ΔΙΟΝΥΣΙΟΥ-ΑΣΤΕΡΙΟΥ Α. Η βιολογική σημασία της υπεροξειδωσής των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. *Ιατρική* 1999, 76:248-255
- ΜΑΜΟΥΛΑΚΗΣ Χ, ΜΑΡΚΑΚΗΣ Ι. Η ομοιοστασία του ασβεστίου στο νευρικό κύτταρο. *Ιατρική* 1997, 72:360-367
- GERTLER JP, OCASIO VH. Endothelin production by hypoxic human endothelium. *J Vasc Surg* 1993, 18:178-182
- LEPPALUOTO J, RUSKOAHO H. Endothelin peptides: biological activities, cellular signaling and clinical significance. *Ann Med* 1992, 24:153-161
- ΟΗΝΑΚΑ Κ, ΤΑΚΑΥΑΝΑΓΙ Ρ, ΝΙΣΗΚΑΒΑ Μ, ΧΑΪ Μ, ΝΑΒΑΤΑ Η. Purification and characterization of a phosphoramidon sensitive-endothelin-converting enzyme in porcine aortic endothelium. *J Biol Chem* 1993, 268:26759-26766
- SHIREMAN PK, PEARSE WH. Endothelial cell function: Biologic and physiologic functions in health and disease. *Am J Roentgenol* 1996, 166:7-13
- DZAU VJ, GIBBONS CH, OMOIGUI N. Vascular biology and medicine in the 1990s: Scope, concepts, potentials and perspectives. *Circulation* 1993, 87:705-719
- GRABOWSKI EF. Thrombolysis, flow and vessels wall interactions. *J Vasc Intervent Radiol* 1995, 6:258-262
- WANG XIANGDONG, ANDERSON R. The role of endothelial cells in the systemic inflammatory response syndrome and multiple organ failure. *Eur J Surg* 1995, 191:703-713
- BEVILACQUA MP, POBER JS, MAJEAU GR, COTRAN R, GIMBRONE MA Jr. Interleukin (IL-1) induces biosynthesis and cell surface expres-

- sion of procoagulant activity in human vascular endothelial cells. *J Exp Med* 1984, 160:618-623
31. ΜΑΥΡΟΜΑΤΙΔΗΣ Κ. *Ιντερλευκίνη-1 (IL-1) και Ιντερλευκίνη-6 (IL-6)*. University Studio Press, Θεσσαλονίκη, 1993:28-40
 32. OKADA H, WOODCOCK-MITCHELL J, MITCHELL J, SAKAMOTO T, MARUTSUKA K, SOBEL BE ET AL. Induction of plasminogen activator inhibitor type 1 and type 1 collagen expression in rat cardiac microvascular endothelial cells by interleukin-1 and its dependence on oxygen-centered free radicals. *Circulation* 1998, 97:2175-2182
 33. PARDI R, INVERADI L, BENDER JR. Regulatory mechanism in leucocyte adhesion: flexible receptors for sophisticated travellers. *Immunol Today* 1992, 13:224-230
 34. ROTH CJ. Platelets and blood vessels: the adhesion event. *Immunol Today* 1992, 13:100-105
 35. ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΠΟΥΛΟΣ Κ. Πρωτεΐνες της εξωκυτταρικής θεμέλιας ουσίας με αντιπροσκολλητική δράση. *Ιατρική* 1998, 74:151-154
 36. ZIMMERMAN GA, MCINTYRE TM, PRESCOTT SM. Thrombin stimulates the adherence of human neutrophils to human endothelial cells *in vitro*. *J Clin Invest* 1985, 76:2235-2246
 37. BEVILACQUA MP. Endothelial-leucocyte adhesion molecules. *Ann Rev Immunol* 1993, 11:767-804
 38. RICE GE, MUNRO JM, CORLESS C, BEVILACQUA MP. Vascular and non-vascular expression of ICAM-1: a target for mononuclear leucocyte adhesion in normal and inflamed human tissue. *Am J Pathol* 1991, 138:385-393
 39. ΠΑΥΛΑΤΟΥ Μ. Κύτταρα του ανοσιακού συστήματος. Στο: *Ανοσολογία*. 3η έκδοση. Ιατρικές εκδόσεις Λίτσα, Αθήνα, 1997: 53-54
 40. MASTORAKOS G, CHROUSOS GP. Neuroendocrinology of the immune/inflammatory process. *Iatriki* 1997, 72:36-44
 41. ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΠΟΥΛΟΣ Κ. Πρόσφατα δεδομένα αξιοποίησης των μορίων προσκόλλησης στις νεοπλασίες. *Ελλ Ιατρ* 1999, 65: 241-245
 42. SAITO K, SUYAMA K, NISHIDA K, SEI Y, BASILE AS. Early increases in TNF- α , IL-6 and IL-1 β levels following transient cerebral ischemia in gerbil brain. *Neurosci Lett* 1996, 206:149-152
 43. BENVENISTE EN. Inflammatory cytokines within the central nervous system: sources, function, and mechanism of action. *Am J Physiol* 1992, 263:C1-C16
 44. BETZ AL, SCHIELKE GP, YANG GY. Interleukin-1 in cerebral ischemia. *Keio J Med* 1996, 45:230-237
 45. CURTIS BM, WIDMER MB, DE ROOS P, QWARNSTROM EE. IL-1 and its receptors are translocated to the nucleus. *J Immunol* 1990, 144:1295-1303
 46. HORUK R, HUANG JJ, COVINGTON M, NEWTON RC. A biochemical and kinetic analysis of the interleukin-1 receptor. Evidence for differences in molecular properties receptors. *J Biol Chem* 1987, 262: 16275-16278
 47. DINARELLO CA. Interleukin-1. In: Thomson A (ed) *The Cytokine Handbook*. 3rd ed. Academic Press, San Diego, California, 1998: 35-72
 48. MUNKER R, GASSON J, OGAWA M, KOEFFLER HP. Recombinant human TNF induces production of granulocyte-monocyte colony-stimulating factor. *Nature* 1986, 323:79-82
 49. FEUERSTEIN GZ, LIN T, BARONE FC. Cytokines, inflammation, and brain injury: role of tumor necrosis factor- α . *Cerebrovasc Brain Metal Rev* 1994, 6:341-360
 50. WANG X, YNE TL, BARONE FC, WHITE RF, GAGNON RC, FEUERSTEIN GZ. Concomitant cortical expression of TNF-alpha and IL-1-beta mRNAs follows early response gene expression in transient focal ischemia. *Mol Chem Neuropathol* 1994, 23:103-114
 51. DAWSON D, MARTIN D, HALLENBECK JM. Inhibition of tumor necrosis factor-alpha reduces focal cerebral ischemic injury in the spontaneously hypertensive rat. *Neurosci Lett* 1996, 218:41-44
 52. BARONE FC, ARVIN B, WHITE RF, MILLER A, WEBB CL, WILLETTE RN ET AL. Tumor necrosis factor-alpha. A mediator of focal ischemic brain injury. *Stroke* 1997, 28:1233-1244
 53. RELTON JK, ROTHWELL NJ. Interleukin-1 receptor antagonist inhibits ischaemic and excitotoxic neuronal damage in the rat. *Brain Res Bull* 1992, 29:243-246
 54. RELTON JK, MARTIN D, THOMPSON RC, RUSSEL DA. Peripheral administration of interleukin-1 receptor antagonist inhibits brain damage after focal cerebral ischemia in the rat. *Exp Neurol* 1996, 138: 206-213
 55. BAGGIOLINI M, LOETSCHER P, MOSER B. Interleukin-8 and the chemokine family. *Int J Immunopharmacol* 1995, 17:103-108
 56. KOSTULAS N, KIVISAKK P, HUANG Y, MATUSEVICIUS D, KOSTULAS V, LINK H. Ischemic stroke is associated with a systemic increase of blood mononuclear cells expressing interleukin-8 mRNA. *Stroke* 1998, 29:462-466
 57. MATSUMOTO T, IKEDA K, MUKAIDA N, HARADA A, MATSUMOTO Y, YAMASHITA J ET AL. Prevention of cerebral edema and infarct in cerebral reperfusion injury by an antibody to interleukin-8. *Lab Invest* 1997, 77:119-125
 58. EMERY P, SALMON M. Systemic mediators of inflammation. *Br J Hosp Med* 1991, 45:164-168
 59. ADERKA D, LE J, VILCEK J. Interleukin-6 inhibits lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor production in cultured human monocytes, U 937 cells and in mice. *J Immunol* 1989, 143:3517-3523
 60. GAULDIE J, NORTHEMANN W, FEY GH. IL-6 functions as an exocrine hormone in inflammation. Hepatocytes undergoing acute phase responses require exogenous IL-6. *J Immunol* 1990, 144:3804-3808
 61. XING Z, GAULDIE J, COX G, BAUMANN H, JORDANA M, LEI XF ET AL. IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *J Clin Invest* 1998, 101: 311-320
 62. DE GRABA TJ. The role of inflammation after acute stroke. Utility of pursuing anti-adhesion molecule therapy. *Neurology* 1998, 51(Suppl 3):S62-S68
 63. POBERJS, COTRAN RS. The role of endothelial cells in inflammation. *Transplantation* 1990, 50:537-544
 64. MENDER MD, VOLMAR B. Adhesion molecules as determinants of disease: From molecular biology to surgical research. *Br J Surg* 1996, 83:588-601
 65. VANE JR, ANGGARD EE, BOTTING RM. Regulatory functions of the vascular endothelium. *N Engl J Med* 1990, 323:27-36
 66. OKADA Y, COPELAND BR, MORI E, TUNG MM, THOMAS WS, DEL ZOPPO GJ. P-selectin and intercellular adhesion molecule-1 expression

- after focal brain ischemia and reperfusion. *Stroke* 1994, 25:202–211
67. ROTHWELL NJ, LODDICK SA, STROEMER P. Interleukins and cerebral ischaemia. *Int Rev Neurobiol* 1997, 40:281–298
68. BEVILACQUA MP, NELSON RM, MANNORI G, CECCONI O. Endothelial leucocyte adhesion molecules in human disease. *Annu Rev Med* 1994, 45:361–378
69. SELMAN WR, BHATTI SU, LUST D, RATCHESON RA. Pathophysiology of cerebral ischemia. In: Carter LP, Spetzler RF, Hamilton MG (eds) *Neurovascular Surgery*. New York, McGraw-Hill, 1995:233–248
70. SMITH SS, JONECKIS GC, PARICE LV. Regulations of vascular integrins. *Blood* 1993, 81:2827–2843
71. MACDONALD RL, STOODLEY M. Pathophysiology of cerebral ischemia. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 1998, 38:1–11
72. CHEN H, CHOPP M, ZHANG RL, BODZIN G, CHEN Q, RUSCHE JR ET AL. Anti-CD11B monoclonal antibody reduces ischemic cell damage after transient focal cerebral ischemia in rat. *Ann Neurol* 1994, 35:458–463
73. CLARK WM, MADDEN KP, ROTHLEIN R, ZIVIN JA. Reduction of central nervous system ischemic injury by monoclonal antibody to intercellular adhesion molecule. *J Neurosurg* 1991, 75:623–627
74. ZHANG RL, CHOPP M, LI Y, ZALOGA C, JIANG N, JONES ML ET AL. Anti-ICAM-1 antibody reduces ischemic cell damage after transient middle cerebral artery occlusion in the rat. *Neurology* 1994, 44:1747–1751
75. ZHANG RL, CHOPP M, JIANG N, TANG WX, PROSTAK J, MANNING AM ET AL. Anti-intercellular adhesion molecule-1 antibody reduces ischemic cell damage after transient but not permanent middle cerebral artery occlusion in the Wistar rat. *Stroke* 1995, 26:1438–1442
76. PRESTIGIACOMO CJ, KIM SC, CONOLLY ES Jr, LIAO H, YAN SF, PINSKY DJ. CD18-mediated neutrophil recruitment contributes to the pathogenesis of reperfused but not nonreperfused stroke. *Stroke* 1999, 30:1110–1117
77. ZHANG RL, ZHANG ZG, CHOPP M. Increased therapeutic efficacy with rtPA and anti-CD18 antibody treatment of stroke in the rat. *Neurology* 1999, 52:273–279
78. DEL ZOPPO GJ. Why do all drugs work in animals but none in stroke patients? 1: Drugs promoting cerebral blood flow. *J Intern Med* 1995, 237:79–88
79. GROTTA J. Why do all drugs work in animals but none in stroke patients? 2: Neuroprotective therapy. *J Intern Med* 1995, 237:89–94
80. ABBAS AK, LICHTMAN AH, POBER JS. Antibodies and antigens. In: *Cellular and Molecular Immunology*. 3rd ed. Philadelphia, WB Saunders, 1997:37–65
81. ROTHLEIN R, KISHIMOTO TK, MAINOLFI E. Cross-linking of ICAM-1 induces co-signaling of an oxidative burst from mononuclear leucocytes. *J Immunol* 1994, 152:2488–2495
82. ZHANG R, POWERS C, ZHANG Z, CHOPP M. Infusion of intercellular adhesion molecule 1 antibody (18 h) upregulates E- and P-selectin expression during focal embolic cerebral ischemia in rats (abstract). *Stroke* 1998, 29:282

Corresponding author:

K. Hadjigogos, 10 K. Paleologou street, GR-551 33 Thessaloniki, Greece
