



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



**Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών «Βασικές Βιοϊατρικές Επιστήμες
(BBE)»**

Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης (ΜΔΕ)

**Διερεύνηση της σημασίας της διαλυτής VE-cadherin ως
διαγνωστικού δείκτη της αγγειακής δυσλειτουργίας**

Ευθαλία Ρούσσου

**Επιβλέπων Καθηγητής: Παναγιώτης Κούκλης – Επίκουρος Καθηγητής Γενικής
Βιολογίας**

Ιωάννινα 2024



UNIVERSITY OF IOANNINA
SCHOOL OF HEALTH SCIENCE
FACULTY OF MEDICINE



**PROGRAMME OF POSTGRADUATE STUDIES “ BASIC
BIOMEDICAL SCIENCES”**

**Significance of soluble VE-cadherin as diagnostic marker of
vascular dysfunction**

Efthalia Roussou

Supervisor: Panagiotis Kouklis – Assistant Professor of General Biology

Ioannina 2024

Μέλη Τριμελούς Επιτροπής Αξιολόγησης:

1. Παναγιώτης Κούκλης - Επίκουρος Καθηγητής Τμήματος Γενικής Βιολογίας
2. Αικατερίνη Νάκα - Καθηγήτρια Τμήματος Καρδιολογίας
3. Σάββας Χριστοφορίδης - Καθηγητής Τμήματος Βιολογικής Χημείας

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα Διπλωματική εργασία συντάχθηκε στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών “Βασικές Βιοϊατρικές Επιστήμες” και με κατεύθυνση “Αναγεννητική Ιατρική - Βλαστικά Κύτταρα” του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, κατά τη διάρκεια του ακαδημαϊκού έτους 2023 – 2024.

Θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Παναγιώτη Κούκλη, Επίκουρο Καθηγητή Γενικής Βιολογίας του Τμήματος Ιατρικής, για την εμπιστοσύνη του στην ανάθεση της Διπλωματικής αυτής εργασίας αλλά και για τη βοήθειά του καθ’ όλη τη διάρκεια των σπουδών μου αλλά και κατά τη συγγραφή της εργασίας μου. Θα ήθελα να τον ευχαριστήσω θερμά για την ευκαιρία που μου έδωσε να παρακολουθήσω και να εκπαιδευτώ πάνω σε ορισμένες εργαστηριακές τεχνικές οι οποίες θα μου φανούν πολύ χρήσιμες έως αναγκαίες για τη μετέπειτα ερευνητική και ακαδημαϊκή μου πορεία. Ευχαριστώ επίσης, την διδακτορική του φοιτήτρια Κωνσταντίνα, η οποία αφιέρωσε αρκετές ώρες από τον χρόνο της προκειμένου να καταρτιστώ κατάλληλα στις εργαστηριακές αυτές τεχνικές. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα. Αικατερίνη Νάκα, Καθηγήτρια Τμήματος Καρδιολογίας και νυν Διευθύντρια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος “Βασικές Βιοϊατρικές Επιστήμες” και τον κ. Σάββα Χριστοφορίδη, Καθηγητή Τμήματος Βιολογικής Χημείας του Τμήματος Ιατρικής, για την αποδοχή της συμμετοχής τους στην αξιολόγηση της εργασίας μου αλλά και για τη μεγάλη συμβολή και συνεισφορά τους στο Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα γενικότερα. Ακόμη, δε θα μπορούσα να μην ευχαριστήσω την κα. Πατρώνα Βεζυράκη, Ομότιμη Καθηγήτρια Φυσιολογίας και τέως Διευθύντρια του συγκεκριμένου Μεταπτυχιακού Προγράμματος, για την υποστήριξη και την πίστη της σε μένα και τις ικανότητές μου. Ευχαριστώ πολύ τον κ. Ιωάννη Σίμο, Επίκουρο Καθηγητή Φυσιολογίας, όπως επίσης και την διδακτορική και τις μεταπτυχιακές του φοιτήτριες, για την πολύτιμη ευκαιρία που μου έδωσαν να παρακολουθήσω τα εργαστήριά τους.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τις φίλες και συμφοιτήτριες μου Δέσποινα και Παρασκευή, για την ψυχολογική στήριξη και τις όμορφες στιγμές που μοιραστήκαμε τα τελευταία δύο χρόνια στα Ιωάννινα, καθώς επίσης και τους γονείς μου, το αγόρι μου και τη γατούλα μου, που είναι πάντα δίπλα μου, μου δίνουν κουράγιο και δύναμη στις δύσκολες στιγμές μου, με στηρίζουν και μου δείχνουν εμπιστοσύνη σε κάθε μου βήμα.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το αγγειακό σύστημα αποτελεί ένα από τα πιο σημαντικά συστήματα του οργανισμού, με τεράστια συμβολή τόσο στα υπόλοιπα συστήματα όσο και στη διατήρηση της ομοιοστασίας του σώματος. Το ενδοθήλιο είναι ένα μεγάλο, διάχυτο και ετερογενές όργανο το οποίο αποτελείται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα (ECs) και επενδύει ολόκληρο το αγγειακό και το λεμφικό σύστημα. Διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο σε πολλές φυσιολογικές διεργασίες του οργανισμού μεταξύ των οποίων στη ρύθμιση του αγγειακού τόνου, την αγγειακή διαπερατότητα, την αγγειογένεση αλλά επίσης στη θρομβογένεση και την φλεγμονή. Κύριο χαρακτηριστικό γνώρισμα των ECs αποτελεί η πλαστικότητα τους. Στις δια-κυτταρικές επαφές εντοπίζεται ένας αριθμός πρωτεϊνών με ομοφιλικές συγκολλητικές δράσεις οι οποίες απαρτίζουν τα μόρια κυτταρικής προσκόλλησης. Μεταξύ των σημαντικότερων μορίων κυτταρικής προσκόλλησης των ECs περιλαμβάνονται οι καντχερίνες. Οι τελευταίες, αποτελούν μια ασβεστοεξαρτώμενη υπεροικογένεια μορίων δια-κυτταρικής προσκόλλησης που εμπλέκονται στη διατήρηση των δια-κυτταρικών συνδέσεων. Ανισορροπία στις λειτουργίες και τους παράγοντες που απελευθερώνονται από το ενδοθήλιο μπορεί να οδηγήσει σε αγγειακή δυσλειτουργία με σοβαρές επιπτώσεις στην υγεία των ατόμων αλλά και την δημιουργία παθολογικών καταστάσεων. Η χρήση αξιόπιστων βιοδεικτών, αποτελεί επιτακτική ανάγκη για έγκαιρη πρόγνωση, ανίχνευση διαχείριση και παρακολούθηση μιας ασθένειας. Η VE-cadherin, ένα μόριο προσκόλλησης το οποίο εκφράζεται αποκλειστικά στα ECs, παίζει καθοριστικό ρόλο στην αγγειακή διαπερατότητα, σε μορφογενετικά και πολλαπλασιαστικά συμβάντα των ECs που σχετίζονται με την αγγειογένεση, όπως επίσης και στην προσκόλληση των ECs. Πρόκειται για μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη, η οποία κάτω από ορισμένες καταστάσεις, όπως φλεγμονή, αλλά και διάφορα ερεθίσματα, υποβάλλεται σε διαδικασία shedding, αποκολλάται δηλαδή ο εξωκυτταρικός τομέας της και απελευθερώνεται στην κυκλοφορία του αίματος στη διαλυτή μορφή της πρωτεΐνης, γνωστή ως sVE-cadherin. Αυξημένα επίπεδα της sVE-cadherin στον αίμα των ασθενών, έχουν συσχετιστεί με διάφορες παθολογικές καταστάσεις, καθώς επίσης μπορεί να παίζει και κάποιο ρόλο στην παθοφυσιολογία ορισμένων ασθενειών. Διάφορες μελέτες έχουν προτείνει την sVE-cadherin ως δείκτη αγγειακής δυσλειτουργίας, ωστόσο διαθέτουν τους περιορισμούς τους. Η κλινική σημασία του μορίου αυτού είναι αναγκαίο να διερευνηθεί εκτενέστερα καθώς μπορεί να αποτελέσει έναν βιοδείκτη υψίστης σημασίας για διαγνωστικούς και κλινικούς σκοπούς.

Λέξεις - Κλειδιά: ενδοθηλιακά κύτταρα, βιοδείκτης, αγγειακή δυσλειτουργία, αγγειακή ενδοθηλιακή καντχερίνη (VE-cadherin), διαλυτή αγγειακή ενδοθηλιακή καντχερίνη (sVE-cadherin)

ABSTRACT

The vascular system is one of the most important systems in the body, with a huge contribution to both the other systems and the maintenance of the body's homeostasis. The endothelium is a large, diffuse and heterogeneous organ composed of endothelial cells (ECs) that line the entire vascular and lymphatic system. It plays a key role in many physiological processes in the body including regulation of vascular tone, vascular permeability, angiogenesis but also in thrombogenesis and inflammation. The main characteristic of ECs is their plasticity. A number of proteins with homophilic adhesive activities are localised at the interendothelial contacts and constitute the cell adhesion molecules. Among the most important cell adhesion molecules of ECs are the cadherins. The latter, constitute a calcium-dependent superfamily of intercellular adhesion molecules involved in the maintenance of intercellular connections. An imbalance in the functions and factors released from the endothelium can lead to vascular dysfunction with serious health implications for individuals and the development of pathological conditions. The use of reliable biomarkers is imperative for early diagnosis, detection, management and monitoring of disease. VE-cadherin, an adhesion molecule expressed exclusively in ECs, plays a crucial role in vascular permeability, morphogenetic and proliferative events of ECs associated with angiogenesis, as well as in ECs' adhesion properties. It is a transmembrane protein, which under certain conditions, such as inflammation and various stimuli, undergoes a shedding process, i.e. its extracellular domain is detached and released into the bloodstream in the soluble form of the protein, known as sVE-cadherin. Increased levels of sVE-cadherin in the blood of patients have been associated with various pathological conditions, and it may also play a role in the pathophysiology of certain diseases. Several studies have suggested sVE-cadherin as a marker of vascular dysfunction, however they had their limitations. The clinical relevance of this molecule needs to be further investigated as it may be a biomarker of paramount importance for diagnostic and clinical purposes.

Keywords: endothelial cells, biomarker, vascular dysfunction, VE-cadherin, sVE-cadherin

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ - Λέξεις-Κλειδιά

ABSTRACT – Keywords

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ/ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ / ΠΙΝΑΚΩΝ

ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Καρδιαγγειακό Σύστημα
2. Ενδοθήλιο
 - 2.1. Γενικά
 - 2.2. Ενδοθηλιακή ετερογένεια
 - 2.3. Είδη ενδοθηλιακών κυττάρων
 - 2.4. Προέλευση αγγειακού ενδοθηλίου
 - 2.5. Λειτουργίες ενδοθηλίου
 - 2.6. Σημασία της αγγειακής υγείας
3. Μόρια κυτταρικής προσκόλλησης και κυτταρικές ενδοθηλιακές συνδέσεις
 - 3.1. Μόρια κυτταρικής προσκόλλησης
 - 3.2. Κυτταρικές ενδοθηλιακές συνδέσεις
 - 3.3. Πρωτεΐνες προσκόλλησης που βρίσκονται στις ενδοθηλιακές δια-κυτταρικές επαφές
4. Βιοδείκτες
5. Ρόλος βιοδεικτών στην εκτίμηση της αγγειακής δυσλειτουργίας
6. sVE – cadherin ως δυνητικός βιοδείκτης
7. Σκοπός

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΑΓΓΕΙΑΚΗ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ

1. Γενικά
2. Συνέπειες αγγειακής δυσλειτουργίας
3. Αναγκαιότητα χρήσης αξιόπιστων βιοδεικτών για έγκαιρη ανίχνευση και παρακολούθηση

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΑΓΓΕΙΑΚΗ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΗ ΚΑΝΤΧΕΡΙΝΗ (VASCULAR ENDOTHELIAL CADHERIN – ve –cadherin)

1. Υπεροικογένεια καντχερινών
2. Αγγειακή ενδοθηλιακή καντχερίνη - Δομή
3. Ρόλος στην προσκόλληση των ενδοθηλιακών κυττάρων και στην αγγειακή λειτουργία

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΔΙΑΛΥΤΗ ΣΤΟΝ ΟΡΟ ΑΓΓΕΙΑΚΗ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΗ ΚΑΝΤΧΕΡΙΝΗ (SOLUBLE VASCULAR ENDOTHELIAL CADHERIN – sVE-cadherin)

1. Διαδικασία απελευθέρωσης στον ορό
2. Σχέση με διάφορες ασθένειες

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ SVE-CADHERIN ΩΣ ΒΙΟΔΕΙΚΤΗ ΑΓΓΕΙΑΚΗΣ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ

- 4.1. Μεθοδολογίες που χρησιμοποιούνται στην έρευνα
- 4.2. Μελέτες που προτείνουν την sVE-cadherin ως πιθανό δείκτη αγγειακής δυσλειτουργίας
 - 4.2.1. Υψηλή συγκέντρωση της sVE-cadherin σχετίζεται με στεφανιαία αθηροσκλήρωση
 - 4.2.2. Η sVE-cadherin ως νέος δείκτης παρακολούθησης της δραστηριότητας της Ρευματοειδούς Αρθρίτιδας (Rheumatoid Arthritis - RA)
 - 4.2.3. Αυξημένα επίπεδα της sVE-cadherin στον ορό μπορεί να αποτελέσουν έναν νέο βιοδείκτη αξιολόγησης της σοβαρότητας της πορφύρας Henoch-Schönlein (HSP) και

εντοπισμού της παρουσίας Συστηματικής Αγγειίτιδας (SV) σε φλεγμονώδεις δερματικές παθήσεις

4.2.4. Η σημασία της sVE-cadherin στην πρόωμη ανίχνευση της προεκλαμψίας

4.2.5. Η sVE-cadherin μπορεί να αποτελεί βιοδείκτη ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας σχετιζόμενη με στεφανιαία νόσο στον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (T2DM)

4.2.6. Αυξημένες συγκεντρώσεις sVE-cadherin: Νέος βιοδείκτης ενδοθηλιακής βλάβης σε ασθενείς με STEC-HUS

4.2.7. Η σημασία της sVE-cadherin στη σήψη

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ/ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ / ΠΙΝΑΚΩΝ

Εικόνα 1. Σχήμα κατεύθυνσης ροής αίματος στο Κυκλοφορικό Σύστημα

Εικόνα 2. Ηλεκτρονική μικρογραφία μιας ενδοθηλιακής σύνδεσης σε αορτή ποντικού

Εικόνα 3. Συγκολλητικές πρωτεΐνες μεταξύ ενδοθηλιακών κυττάρων

Εικόνα 4. Βασικές δομές χαρακτηριστικών μελών υπεροικογένειας καντχερινών

Εικόνα 5. Σχηματική αναπαράσταση (Α) της οργάνωσης των τομέων των καντχερινών Τύπου I/II, (Β) μοντέλων προσκόλλησης με βάση την καντχερίνη

Εικόνα 6. Σχηματική απεικόνιση της αλληλεπίδρασης της VE-cadherin με ενδοκυτταρικές πρωτεΐνες

Εικόνα 7. Σχηματική απεικόνιση των δομικών τροποποιήσεων της VE-cadherin που οδηγούν στη διάσπαση του εκτοτομέα της

Εικόνα 8. Οι 4 τύποι της δοκιμασίας ELISA

Εικόνα 9. Τα 4 βήματα της τεχνικής Western Blot

Διάγραμμα 1. Συγκεντρώσεις της VE-cadherin στο πλάσμα δειγμάτων από περιφερικό αίμα και αίμα του φλεβοκόμβου στις ομάδες ασθενών με AMI, AP, και OMI, καθώς και στην ομάδα ελέγχου (control).

Διάγραμμα 2. Συσχέτιση των επιπέδων της sVE-cadherin στον ορό: (a) σε ασθενείς με HSP σε οξύ στάδιο και σε στάδιο ανάρρωσης σε 16 ασθενείς, (b) με τα συνολικά κλινικά αποτελέσματα σε 30 ασθενείς

Διάγραμμα 3. Συγκεντρώσεις της sVE-cadherin στον ορό ασθενών με σοβαρή σήψη, ασθενών χωρίς σοβαρή σήψη και της ομάδας ελέγχου

Πίνακας 1. Δημογραφικά στοιχεία των ομάδων και επίπεδα της sVE-cadherin στον ορό ασθενών με HSP, UV, AV, BD, PV, AD και στην ομάδα ελέγχου.

Πίνακας 2. Τα βασικά χαρακτηριστικά των 3 ομάδων ατόμων που μελετήθηκαν. Ομάδα Α: ασθενείς με T2DM και στεφανιαία νόσο, Ομάδα Β: ασθενείς με T2DM χωρίς στεφανιαία νόσο, Ομάδα C: ομάδα ελέγχου

ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΩΝ

AD: atopic dermatitis	IL-1: interleukin-1
ADAMs: a disintegrin and metalloproteinases	JAMs: Junctional adhesion molecules
AJ: adheren junction	kDA: kilodalton
AKI: acute kidney injury	LDL: low density lipoprotein
AKI-RRT: renal replacement therapy in acute kidney injury	LFA: Lymphocyte Function Associated Antigen
AMI: acute myocardial infarction	MadCAM-1: mucosal vascular addressin cell adhesion molecule 1
Ang-1:angiotensin-1	MeSH: Medical Subject Heading
AP: angina pectoris	MMPs: matrix metalloproteinases
APC: Adenomatous Polyposis Col	n-cadherin: neural - cadherin
ASDS: alveolar capillary dysplasia syndrom	NIH: National Institute of Health
AV: allergic vasculitis	NK: natural killer
BD: Behcet disease	NO: nitric oxide
BMI: body mass index	NOS: nitric oxide synthase
BPH: bening prostate hyperplasia	OHSS: ovarian hyperstimulation syndrom
CaM: calmodulin	OMI: old myocardial infarction
CAR: chimeric antigen receptor	OSA: obstructive sleep apnea
CHO: chinese hamster ovary cell line	PC: prostate cancer
CRP: C- reactive protein	p-cadherin: placental - cadherin
CSF:cerebrospinal fluid	Pcdh12: protocadherin 12
CVD: cardiovascular disease	PCR: Polymerase Chain Reaction
DAS: disease activity score	PE-CAM1: platelet and endothelial cell adhesion molecule 1
DCS2:desmocollin-2	PKC: protein kinase C
DSG2: desmoglein-2	PV: psoriasis vulgaris
EC: endothelial cell	RA: rheumatoid arthritis
EC1: cadherin extracellular domain 1	r-cadherin: retinal - cadherin
e-cadherin: epithelial cadherin	ROS: reactive oxygen species
ECM: extracellular matrix	SAH: sabarachnoid hemorrhage

ED: endothelial dysfunction	SD: standard deviation
EDHF: endothelium-derived hyperpolarizing factor	sE-cad: soluble epithelial cadherin
EGF: epidermal growth factor	S1P: sphingosine-1-phosphate
ELISA: enzyme – linked immunosorbent assay	STEC: shiga toxin producing Escherichia coli
EPCs: endothelial progenitor cells	SV: systemic vasculitis
ESAM: endothelial cell adhesion molecule protein	sVE-cadherin: soluble vascular endothelial cadherin
ET-1: endothelin -1	SYN-1: syndecan-1
FDA: food and drug administration	TBAD: Type B Aortic Dissection
FGFR1: fibroblast growth factor receptor 1	TC: total cholesterol
GAPs: GTPase activating protein	T2DM: Type 2 Diabetes Mellitus
GEFs: guanine nucleotide exchange factors	TG: triglycerides
GJ: gap junction	TGF- β : transforming growth factor β
GPI: glycosylphosphatidylinositol	TJ: tight junction
GSK-3: glycogen synthase kinase 3	TNF- α : tumor necrosis factor α
HAV	Trp-2: tryptofan - 2
HbA1c: glycated haemoglobin	UV: urticarial vasculitis
HCG: human chorionic gonadotropin	VCAM-1: vascular cell adhesion molecule 1
HDL: high density lipoprotein	VE-cadherin: vascular endothelial cadherin
HIF-1: hypoxia inducible factor-1	VEGF: vascular endothelial growth factor
HMG: high mobility group transcription factors	VEGFR: vascular endothelial growth factor receptor
HSP: Henoch-Schönlein purpura	VE-PTP: vascular endothelial protein tyrosine phosphatase
HUS: hemolytic – uremic syndrom	VSMC: vascular smooth muscle cell
HUVECs: human umbilical vein endothelial cells	ΗΚΓ: ηλεκτροκαρδιογράφημα
ICAM: intercellular adhesion molecule 1	
IGF-1: insulin- like growth factor 1	

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

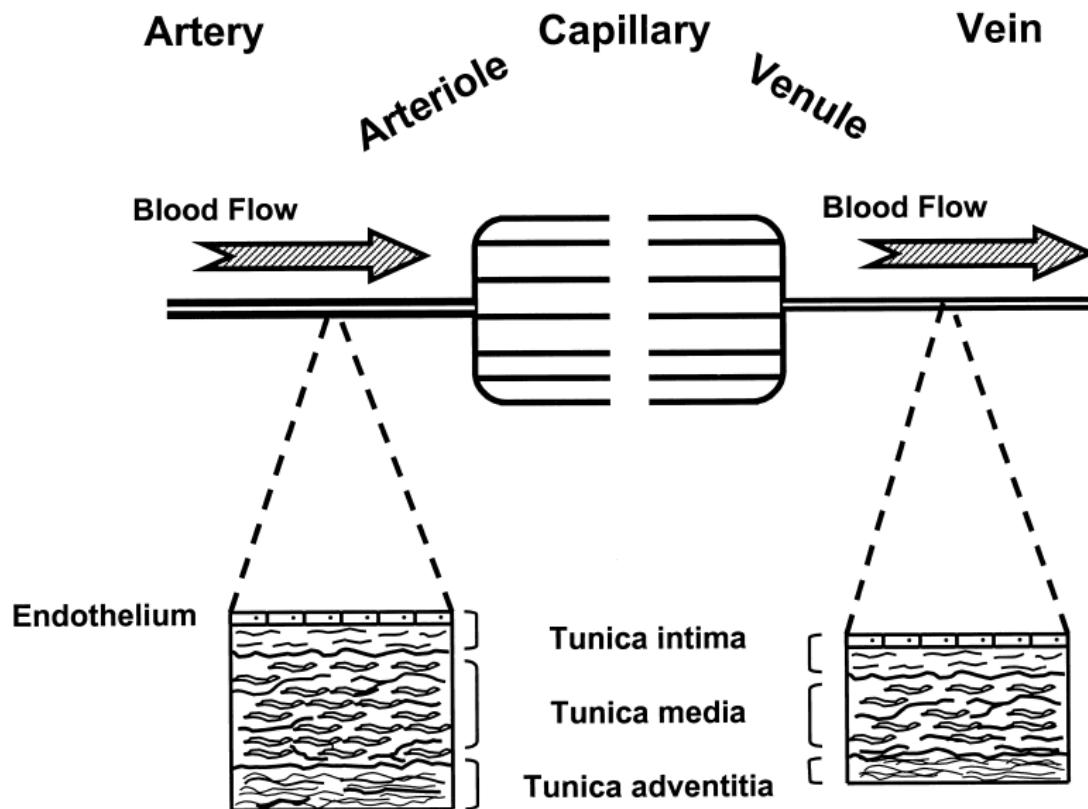
1. Καρδιαγγειακό Σύστημα

Το Αγγειακό Σύστημα του ανθρώπινου σώματος αποτελείται από έναν μεγάλο αριθμό αγγείων τα οποία διαδραματίζουν αναπόσπαστο ρόλο στην μεταφορά του αίματος σε όλο το Κυκλοφορικό Σύστημα. Μόνο μέσω αυτού του εκτεταμένου δικτύου αρτηριών, φλεβών και τριχοειδών αγγείων, διατηρείται η κυτταρική ομοιόσταση. Προκειμένου μια τέτοια ισορροπία να είναι εφικτή, καθίσταται αναγκαίο τα αγγεία και τα σχετικά δομικά στοιχεία που εμπλέκονται να παρουσιάζουν κάποια ομολογία ως προς τη κυτταρική δομή και σύνθεση, ενώ παράλληλα να διαφέρουν αρκετά ως προς τις επιμέρους κυτταρικές τους ιδιότητες, ώστε να μπορούν να εκπληρώσουν τους φυσιολογικούς τους ρόλους.

Η πολυπλοκότητα της οργάνωσης των αγγείων μέσα στο καρδιαγγειακό σύστημα ξεκινά με την αναγνώριση ότι το κυκλοφορικό σύστημα διακρίνεται στο καρδιαγγειακό και το λεμφικό σύστημα. Το καρδιαγγειακό σύστημα αποτελείται από την καρδιά, τα αγγεία και το αίμα και όλα τα κυτταρικά συστατικά του αίματος, ενώ το λεμφικό κυκλοφορικό σύστημα αποτελείται από λεμφικά μικροαγγεία (τριχοειδή) και μεγαλύτερα λεμφαγγεία (Pugsley & Tabrizchi, 2000). Η καρδιά είναι το όργανο που αντλεί αίμα μέσω των αγγείων απευθείας στις αρτηρίες, πιο συγκεκριμένα στην αορτή ή στην πνευμονική αρτηρία. Τα αιμοφόρα αγγεία είναι κρίσιμα επειδή ελέγχουν την ποσότητα της ροής του αίματος σε συγκεκριμένα μέρη του σώματος. Αυτά περιλαμβάνουν αρτηρίες, τριχοειδή αγγεία και φλέβες. Οι αρτηρίες μεταφέρουν αίμα μακριά από την καρδιά και μπορούν να διακριθούν σε μεγάλες και μικρές αρτηρίες. Οι μεγάλες αρτηρίες δέχονται την υψηλότερη πίεση ροής αίματος και είναι παχύτερες και πιο ελαστικές για να ανταποκρίνονται στις υψηλές πιέσεις. Οι μικρότερες αρτηρίες, έχουν περισσότερους λείους μυς, οι οποίοι συστέλλονται ή χαλαρώνουν για να ρυθμίσουν τη ροή του αίματος σε συγκεκριμένα μέρη του σώματος. Τα αρτηρίδια έχουν μικρότερη αρτηριακή πίεση, που σημαίνει ότι δεν χρειάζεται να είναι τόσο ελαστικά. Τα τελευταία ευθύνονται για το μεγαλύτερο μέρος της αντίστασης στην πνευμονική κυκλοφορία επειδή είναι πιο άκαμπτα από τις μεγαλύτερες αρτηρίες. Επιπλέον, τα τριχοειδή αγγεία διακλαδίζονται από τα αρτηρίδια και αποτελούν ένα μονοκυτταρικό στρώμα το οποίο επιτρέπει την ανταλλαγή θρεπτικών ουσιών, αερίων και αποβλήτων με ιστούς και όργανα. Οι φλέβες μεταφέρουν το αίμα πίσω στην καρδιά και περιέχουν βαλβίδες για την πρόληψη της αντίστροφης ροής του αίματος (Chaudhry, Miao & Rehman, 2022).

Πιο συγκεκριμένα, τα περισσότερα αιμοφόρα αγγεία αποτελούνται από τρεις διακριτές ιστολογικές δομές καθεμιά εκ' των οποίων περιέχει διαφορετικές ποσότητες λείων μυϊκών κυττάρων και ελαστίνης (Borysenko & Beringer, 1984). Η μεταβλητότητα αυτή στα κυτταρικά χαρακτηριστικά καθορίζεται νωρίς κατά την ανάπτυξη και βασίζεται στη φυσιολογική λειτουργία που εξυπηρετεί το αγγείο σε ένα όργανο. Κάθε περιοχή ενός αιμοφόρου αγγείου ονομάζεται «χιτώνας» (“tunic”) από τον λατινικό όρο που σημαίνει «μια μεμβράνη ή σχετική δομή που καλύπτει ή επενδύει ένα μέρος του σώματος ή ένα όργανο». Ανατομικά, από τον αυλό του αιμοφόρου αγγείου προς τα έξω, αυτές οι περιοχές ονομάζονται εσωτερικός χιτώνας, μέσος χιτώνας και εξωτερικός χιτώνας (Pugsley & Tabrizchi, 2000).

Ο εσωτερικός χιτώνας είναι συνήθως το λεπτότερο συστατικό στρώμα και αποτελείται από μία μόνο στρώση ενδοθηλιακών κυττάρων τα οποία είναι τοποθετημένα πάνω στη βασική μεμβράνη. Τα ενδοθηλιακά αυτά κύτταρα απαρτίζουν το ενδοθήλιο. Κάτω από αυτό υπάρχει ένα υπο-ενδοθηλιακό, ινο-ελαστικό στρώμα συνδετικού ιστού και μια οργανωμένη εσωτερική ελαστική στοιβάδα που παρέχει ελαστικότητα και σταθερότητα στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Επίσης, σε στενή σχέση με τα ενδοθηλιακά κύτταρα εντοπίζονται τα περιαγγειακά κύτταρα ή τα περικύτταρα. Τα τελευταία είναι πλειοδύναμα (Multipotent) βλαστοκύτταρα, πλήρως ικανά να διαφοροποιούνται σε πολλούς τύπους κυττάρων, όπως ινοβλάστες, οστεοβλάστες, λιποκύτταρα, κύτταρα συνδετικού ιστού και αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα και παρέχουν στα ενδοθηλιακά κύτταρα ένα ισορροπημένο κυτταρικό μικροπεριβάλλον. Ο μέσος χιτώνας περιέχει κυρίως λεία μυϊκά κύτταρα, ίνες ελαστίνης καθώς και μια ακόμη εξωτερική ελαστική στοιβάδα η οποία παρέχει δομική υποστήριξη. Αυτά τα κυτταρικά στρώματα τείνουν να είναι πιο οργανωμένα σε μεγαλύτερες αρτηρίες λόγω της λειτουργίας που παίζουν αυτά τα αγγεία στην κίνηση μεγάλων όγκων αίματος. Τέλος, ο έξω χιτώνας αποτελείται σχεδόν εξ' ολοκλήρου από ινο-ελαστικό συνδετικό ιστό (Pugsley & Tabrizchi, 2000).



Εικόνα 1. Σχήμα κατεύθυνσης ροής αίματος στο Κυκλοφορικό Σύστημα (Pugsley & Tabrizchi, 2000).

Το αγγειακό σύστημα αποτελεί ένα από τα πιο σημαντικά συστήματα του οργανισμού. Αξιοσημείωτη είναι η συμβολή του στο αναπνευστικό σύστημα, στο πεπτικό, στους νεφρούς και το ουροποιητικό σύστημα καθώς και στη ρύθμιση της θερμοκρασίας του σώματος. Αναλυτικότερα, όσον αφορά το αναπνευστικό σύστημα, καθώς πραγματοποιείται η ροή του αίματος μέσω των τριχοειδών αγγείων των πνευμόνων, απομακρύνεται το διοξείδιο του άνθρακα και παραλαμβάνεται το οξυγόνο. Το διοξείδιο του άνθρακα εγκαταλείπει το σώμα μέσω των πνευμόνων, ενώ το οξυγόνο αποστέλλεται στους ιστούς του σώματος μέσω του αίματος. Μέσω των τριχοειδών αγγείων του πεπτικού συστήματος πραγματοποιείται η πρόσληψη θρεπτικών συστατικών, όπως γλυκόζης, βιταμινών και μετάλλων, τα οποία προσλαμβάνονται από την τροφή και εναποτίθενται μέσω της κυκλοφορίας του αίματος

στους διάφορους ιστούς. Χάρη στο κυκλοφορικό σύστημα, τα μη απαραίτητα συστατικά των ιστών φιλτράρονται στους νεφρούς και αποβάλλονται από το σώμα με τη μορφή ούρων. Τέλος, η ροή του αίματος στα διάφορα μέρη του σώματος βοηθά στον έλεγχο της θερμοκρασίας του σώματος. Οι ιστοί του σώματος παράγουν θερμότητα καθώς διασπούν τα θρεπτικά συστατικά για ενέργεια, δημιουργούν νέους ιστούς και αποδίδουν τα απόβλητα (Johns Hopkins Medicine, 2024).

2. Ενδοθήλιο

2.1. Γενικά

Κατά τη δεκαετία του 1950, το ενδοθήλιο πιστευόταν ότι αποτελεί απλώς ένα “περιτύλιγμα σελοφάν” το οποίο χώριζε το αίμα από τον υποκείμενο ιστό, χωρίς κάποια ιδιαίτερη λειτουργία πέραν της επιλεκτικής διαπερατότητας του νερού και των ηλεκτρολυτών (Floreay, 1996; Wilson & Lerman, 2001). Ωστόσο, οι τεράστιες πρόοδοι από τη δεκαετία του 1980 έχουν οδηγήσει στην κατανόηση των πολύπλοκων λειτουργιών αυτού του μεγάλου ενδοκρινούς οργάνου. Το ενδοθήλιο αποτελείται από ένα ενιαίο κυτταρικό στρώμα ενδοθηλιακών κυττάρων (ECs), που επενδύουν το αγγειακό και το λεμφικό σύστημα και καλύπτει μια επιφάνεια μεγαλύτερη από 1.000 m² (Jaffe, 1987). Η κορυφαία επιφάνεια του ενδοθηλίου καλύπτεται από ένα στρώμα που ονομάζεται ενδοθηλιακός γλυκοκάλυκας (Chia, Teo & Yeo, 2020), ο οποίος αποτελείται από ένα μωσαϊκό γλυκοπρωτεϊνών και πρωτεογλυκανών και αλυσίδων γλυκοζαμινογλυκάνης. Ο ενδοθηλιακός γλυκοκάλυκας, με τις εκκρινόμενες πρωτεογλυκάνες και άλλες προσροφημένες πρωτεΐνες του πλάσματος, συμπεριλαμβανομένης της αλβουμίνης, σχηματίζει την ενδοθηλιακή επιφανειακή στιβάδα (Phillips et al., 2017). Τα ECs όπως και ο αντίστοιχος ενδοθηλιακός γλυκοκάλυκας παρουσιάζουν διαφορές ως προς την εμφάνιση και τα συστατικά επιφάνειας τους στις διαφορετικές κατηγορίες οργάνων. Αυτή η φαινοτυπική ετερογένεια επιτρέπει στο ενδοθήλιο να εξυπηρετεί μια σειρά από προσαρμοσμένες λειτουργίες ειδικές για τις διαφορετικές θέσεις (Chia et al., 2020). Τα αγγειακά ECs καλύπτουν ολόκληρο το κυκλοφορικό σύστημα, από την καρδιά μέχρι τα μικρότερα τριχοειδή αγγεία και διαθέτουν πολύ ξεχωριστές και μοναδικές λειτουργίες που είναι υψίστης σημασίας για την αγγειακή βιολογία. Μεταξύ αυτών των λειτουργιών περιλαμβάνονται η διήθηση υγρών, όπως στα σπειράματα των νεφρών, ο αγγειακός τόνος, η αιμόσταση, η στρατολόγηση ουδετερόφιλων και η διακίνηση ορμονών. Το ενδοθήλιο εκτελεί μια ποικιλία ομοιοστατικών λειτουργιών, καλύπτοντας τόσο αισθητήριες όσο και εκτελεστικές λειτουργίες (Durand & Gutterman, 2013).

Ο ρόλος του ενδοθηλίου επιτελείται μέσω της παρουσίας δεσμευμένων στη μεμβράνη υποδοχέων για πολλά μόρια, συμπεριλαμβανομένων πρωτεϊνών, σωματιδίων που μεταφέρουν λιπίδια, μεταβολιτών και ορμονών, καθώς και μέσω συγκεκριμένων πρωτεϊνών και υποδοχέων που διέπουν τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κυττάρων αλλά και μεταξύ μήτρας - κυττάρου. (Cines et al., 1998; Rajendran et al., 2013). Τα ECs παίζουν επίσης

καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση της ροής του αίματος. Το ενδοθήλιο μπορεί να βρίσκεται είτε σε κατάσταση ηρεμίας είτε σε ενεργοποιημένη κατάσταση. Σε κατάσταση ηρεμίας, τα αδρανοποιημένα ECs εκφράζουν έναν αντιπηκτικό, αντισυγκολλητικό και αγγειοδιασταλτικό φαινότυπο, ενώ κατά την ενεργοποιημένη κατάσταση εκφράζουν προπηκτικές, προ-συγκολλητικές και αγγειοσυσπαστικές ιδιότητες (Grover-Páez & Zavalza-Gómez, 2009). Ο ρόλος των ECs στη ρύθμιση της ροής του αίματος επιτυγχάνεται εν μέρη, λόγω της ικανότητας των ήρεμων ECs να δημιουργούν μια ενεργή αντιθρομβωτική επιφάνεια που διευκολύνει τη διέλευση του πλάσματος και των κυτταρικών συστατικών σε όλο το αγγειακό σύστημα. Διαταραχές, όπως αυτές που μπορεί να συμβούν σε σημεία φλεγμονής ή υψηλής υδροδυναμικής διατμητικής καταπόνησης, διαταράσσουν αυτές τις δραστηριότητες και προκαλούν τα ECs να δημιουργήσουν ένα προθρομβωτικό και αντινωδολυτικό μικροπεριβάλλον (Rajendran et al., 2013). Η ροή του αίματος ρυθμίζεται επίσης, εν μέρη, μέσω της έκκρισης και της πρόσληψης αγγειοδραστικών ουσιών από το ενδοθήλιο που δρουν με παρακρινή τρόπο για να συστέλλουν και να διαστέλλουν συγκεκριμένα αγγειακά συστήματα ως απόκριση σε ερεθίσματα, όπως η ενδοτοξίνη (Patel, 2001). Είναι πλέον γνωστό, ότι το ενδοθήλιο παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του αγγειακού τόνου, της δυναμικής διαπερατότητας, της θρομβογένεσης, της φλεγμονής και της αγγειογένεσης (Chia et al., 2020).

2.2. Ενδοθηλιακή ετερογένεια

Τα ECs μπορεί να διαφέρουν σε διάφορες πτυχές, όπως ως προς τη μορφολογία, την απελευθέρωση μεσολαβητή, την αντιγονοπαρουσίαση ή τις αποκρίσεις στο στρες. Οι τύποι

διάφορων ενδοθηλίου διαφέρουν βάσει των διακυτταρικών συνδέσεών τους και μπορούν να ταξινομηθούν ως “συνεχή” (“continuous”), “θυριδωτά” (“fenestrated”) ή “ασυνεχή” (“discontinuous”) (Benett, Luft, & Hampton, 1959).

Το “συνεχές” ενδοθήλιο εντοπίζεται στις περισσότερες αρτηρίες, φλέβες και τριχοειδή αγγεία του εγκεφάλου, του δέρματος, των πνευμόνων, της καρδιάς και των μυών. Τα ECs αυτού του τύπου ενδοθηλίου συνδέονται με στενοσυνδέσμους (Tight Junctions – TJs) και προσκολλούνται σε μια συνεχή, βασική μεμβράνη. Το “θυριδωτό” ενδοθήλιο παρατηρείται σε ιστούς με αυξημένη δια-ενδοθηλιακή μεταφορά ή με αυξημένο ρόλο διήθησης, όπως σε εξωκρινείς και ενδοκρινείς αδένες, τη γαστρεντερική οδό, το χοριοειδές πλέγμα, τα νεφρικά σπειράματα και σε υποπληθυσμούς των νεφρικών σωληναρίων. Τα ECs του “θυριδωτού” ενδοθηλίου συνδέονται επίσης με μια συνεχή, βασική μεμβράνη και χαρακτηρίζονται από

την παρουσία δια-κυτταρικών πόρων πλάτους 50-60 nm, οι οποίοι σφραγίζονται από ένα διάφραγμα πάχους 5 έως 6 nm. Το “ασυνεχές” ενδοθήλιο συναντάται κυρίως στο ήπαρ, αλλά και στον σπλήνα και τον μυελό των οστών και χαρακτηρίζεται από μια φτωχά δομημένη βασική μεμβράνη, η οποία χαρακτηρίζεται από την παρουσία μεγάλων οπών πλάτους 100 έως 200 nm χωρίς διάφραγμα (Aird, 2007; Pries & Kuebler, 2006).

Έχουν προταθεί δύο πιθανές υποθέσεις για να εξηγήσουν αυτήν την ποικιλομορφία στα ενδοθήλια. Κατά τη συνεχή ή εγγενή υπόθεση, η συγκεκριμένοι φαινότυποι των ECs είναι προκαθορισμένοι, πριν αυτά μεταναστεύσουν από το μεσόδερμα στις ειδικές θέσεις εντοπισμού τους μέσα στο αγγειακό σύστημα. Επιπλέον, τα αρτηριακά και φλεβικά ECs εκφράζουν διαφορετικά προφίλ των μορίων των οικογενειών της εφρίνης, της νευροπιλίνης, της οικογένειας Notch και της οικογένειας BMX (περιλαμβάνει τις πρωτεΐνες της κινάσης τυροσίνης τύπου BMX) νωρίς στην ανάπτυξη, δηλαδή πριν από την έναρξη της κυκλοφορίας και συνεπώς ανεξάρτητα από το αιμοδυναμικό στρες (Aird, 2003; le Noble et al., 2004).

Κατά την περιβαλλοντική ή εξωγενή υπόθεση, οι ειδικές ιδιότητες θέσης των ECs καθορίζονται από μικροπεριβαλλοντικούς παράγοντες, όπως διαλυτούς μεσολαβητές, διακυτταρικές αλληλεπιδράσεις αλλά και αλληλεπιδράσεις μεταξύ κυττάρων και εξωκυττάριας μήτρας, από μερικές πιέσεις οξυγόνου ή διοξειδίου του άνθρακα ή από μηχανικές δυνάμεις.

Η εξαιρετική πλαστικότητα των ενδοθηλιακών κυττάρων θα μπορούσε να θεωρηθεί ως η κύρια τους χαρακτηριστική ιδιότητα. Μπορεί να υποθέσει κανείς ότι κάθε ένα από τα τρισεκατομμύρια ECs που περιλαμβάνονται στο σώμα μας είναι φαινοτυπικά ξεχωριστό, καθώς το καθένα πρέπει να “αισθάνεται” και να προσαρμόζεται στις ανάγκες των διαφόρων γειτονικών κυττάρων και σε πολλά διαφορετικά μικροπεριβάλλοντα (Aird, 2007; Aisaka et al., 1989). Επομένως, η φαινοτυπική ετερογένεια του ενδοθηλίου είναι πιθανώς το αποτέλεσμα ενός συνδυασμού γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων (Moncada & Higgs, 2006).

2.3. Είδη ενδοθηλιακών κυττάρων

Υπάρχουν τέσσερις τύποι ενδοθηλιακών κυττάρων σε όλο τον οργανισμό: τα αρτηριακά, φλεβικά, τριχοειδικά και λεμφικά ενδοθηλιακά κύτταρα.

Αρτηριακά ECs:

Οι αρτηρίες, που μεταφέρουν το οξυγονωμένο αίμα και άλλα θρεπτικά συστατικά από την καρδιά στους διάφορους ιστούς, είναι επενδυμένες με ενδοθηλιακά κύτταρα. Αυτά τα κύτταρα επενδύονται επίσης με λεία μυϊκά κύτταρα, τα οποία ενισχύουν το αγγειακό τοίχωμα και εξασφαλίζουν τη γρήγορη κίνηση του αίματος σε κάθε καρδιακό παλμό. Τα αρτηριακά ECs είναι συνήθως επίπεδα, με ύψος που κυμαίνεται από 0,2 μm στις άκρες έως 3μm στον πυρήνα. Η υψηλή ταχύτητα ροής του αίματος μέσα στις αρτηρίες, κάνει αυτά τα ECs να εμφανίζονται συχνά ελλειψοειδή ή επίμηκα και στενά (Przysinda, Feng & Li, 2020).

Φλεβικά ECs: οι επενδυμένες με ECs φλέβες μεταφέρουν το αποξυγονωμένο αίμα από τους ιστούς πίσω στην καρδιά. Τα φλεβικά ECs, σε αντίθεση με τα αρτηριακά, δεν επενδύονται από λεία μυϊκά κύτταρα, αλλά σχηματίζουν βαλβίδες. Καθώς η ροή του αίματος μέσα στις φλέβες είναι πολύ αργή σε σύγκριση με τη ροή των αρτηριών, τα φλεβικά ECs εμφανίζονται με κοντή και φαρδιά μορφή (dela Paz & D'Amore, 2009; Aird, 2007).

Τριχοειδικά ECs: τα ECs των τριχοειδών εμπλέκονται κυρίως στην ανταλλαγή θρεπτικών συστατικών και οξυγόνου στο κυκλοφορικό σύστημα. Η αποτελεσματική ανταλλαγή των διαφόρων ουσιών επιτυγχάνεται χάρη στην πολύ λεπτή επένδυση ενδοθηλιακών κυττάρων. Τα τριχοειδή έχουν διάμετρο μικρότερη από 10μm και το αίμα ρέει μέσα σε αυτά πολύ αργά επιτρέποντας τη διάχυση ουσιών μεταξύ του αίματος και των περιβάλλοντων ιστών. (dela Paz & D'Amore, 2009).

Λεμφικά ECs: τα ECs του λεμφικού συστήματος διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη μεσολάβηση της ανοσολογικής απόκρισης. Περιβάλλονται από μια ασυνεχή, βασική μεμβράνη, δεν περιέχουν περιαγγειακά κύτταρα και έχουν ασυνεχείς "κουμπιόμορφες" κυτταρικές συνδέσεις. Διαθέτουν, επίσης, νημάτια αγκύρωσης που επιτρέπουν την ανίχνευση αλλαγών στην ενδιάμεση πίεση και μπορούν να ρυθμίσουν το άνοιγμα και το κλείσιμο των «βαλβίδων πτερυγίων» μεταξύ των συνδέσεων για να επιτρέψουν την είσοδο υγρών και ανοσοκυττάρων (Przysinda, Feng & Li, 2020).

2.4. Προέλευση αγγειακού ενδοθηλίου

Ο αγγειακός και ο αιμοποιητικός ιστός αναπτύσσονται μαζί, λίγο μετά την εμφύτευση, με το σχηματισμό νησίδων αίματος μέσα στον πρωτόγονο λεκιθικό σάκο που αποτελείται από

δύο τύπους κυττάρων: τους αγγειοβλάστες που σχηματίζουν το εξωτερικό στρώμα των ECs που περιβάλλουν τη νησίδα αίματος και (2) τα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα, στο εσωτερικό σύμπλεγμα, από το οποίο αναπτύσσονται τα πρώτα εμβρυϊκά αιμοσφαίρια. Οι αγγειοβλάστες, οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για τη διαφοροποίηση των ECs, εντοπίζονται κυρίως στο εμβρυϊονικό μεσόδερμα, ενώ η πρόιμη επιβλάστη περιέχει επίσης έναν υποπληθυσμό αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων. Το ενδόδερμα είναι το αρχικό ερέθισμα για το σχηματισμό αγγειοβλαστών. Μέσα στο ίδιο το έμβρυο, οι πρώτοι αγγειοβλάστες προκύπτουν από την πλάγια μεσοδερμική πλάκα και την καρδιακή ημισέληνο. Μερικά κύτταρα μεταναστεύουν στον σχηματιζόμενο εγκέφαλο, ενώ άλλα συγκεντρώνονται στο ενδοκάρδιο του πρώιμου καρδιακού σωλήνα. Άλλοι αγγειοβλάστες σχηματίζουν ένα πλέγμα ECs στη βάση του πρωτόγονου καρδιακού σωλήνα που συναρμολογούνται στα λεκιθικά αγγεία, επιτρέποντας στα κύτταρα του αίματος από το λεκιθικό σάκο να κυκλοφορούν μέσα στο σώμα του εμβρύου. Η αγγείωση των σπλάχνων σχηματίζεται από ECs που διαφοροποιούνται απευθείας από το περιβάλλον μεσέγγυμα που ενσωματώνεται στις αγγειογενετικές προεκτάσεις των εισβαλλόμενων αγγείων (Cines et al., 1998).

2.5. Λειτουργίες ενδοθηλίου

- Θρόμβωση και Θρομβόλυση

Το ενδοθήλιο έχει κρίσιμο ρόλο στην διατήρηση της αιμοστατικής ισορροπίας αποτρέποντας τη θρόμβωση μέσω διαφορετικών αντιπηκτικών και αντιαιμοπεταλιακών μηχανισμών. Η ανισορροπία μεταξύ προ- και αντιπηκτικών συστημάτων λόγω γενετικών ή επίκτητων διαταραχών μπορεί να οδηγήσει σε αιμορραγία ή θρόμβωση. Η ετερογένεια των ενδοθηλιακών κυττάρων εξασφαλίζει τη σωστή λειτουργία σε διάφορα μέρη του αγγειακού συστήματος και εξηγεί επίσης τις ποικίλες παθολογικές αποκρίσεις που συμβαίνουν όταν η αγγειακή ακεραιότητα διαταράσσεται. Η τοπική εκδήλωση θρόμβωσης παρά τη διαταραχή των συστηματικών προπηκτικών συστημάτων εξαρτάται από τις ειδικές ιδιότητες της αγγειακής ενδοθηλιακής επιφάνειας. Η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου προηγείται της αθηρογένεσης και μπορεί να οδηγήσει σε θρόμβωση. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα έχουν σημαντική επίδραση σε ασθένειες της μικροκυκλοφορίας, όπως οι θρομβωτικές μικροαγγειοπάθειες και η διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (Stern et al., 1991).

- Μηχανισμοί Πήξης

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στον έλεγχο της πήξης του αίματος μέσω της ρύθμισης των υποδοχέων για αντιπηκτικούς και προπηκτικούς παράγοντες στην επιφάνειά τους. Σε ανενεργή κατάσταση, διατηρούν το αίμα ρευστό προωθώντας αντιπηκτικούς μηχανισμούς. Κατά την ενεργοποίηση, όπως με τη παρουσία κυτοκινών, η ισορροπία των ιδιοτήτων τους μπορεί να ανατραπεί υπέρ του σχηματισμού θρόμβων, ενεργοποιώντας παράλληλα προπηκτικούς μηχανισμούς. Συγκεκριμένοι παράγοντες, όπως ο παράγοντας νέκρωσης όγκων, καταστέλλουν το σχηματισμό της θρομβομοντουλίνης, ενός ενδοθηλιακού αντιπηκτικού συμπαράγοντα, και επάγουν την έκφραση του ιστικού παράγοντα, ο οποίος είναι ένας προπηκτικός συμπαράγοντας. Αυτές οι αλλαγές επιτρέπουν την εμφάνιση θρόμβων σε περιοχές με φλεγμονή, ενώ παράλληλα διατηρούν το αίμα ρευστό στη γύρω περιοχή των φυσιολογικών αγγείων. Πρόσφατες έρευνες υποδεικνύουν ότι παρόμοιες αλλαγές στα αγγεία μπορούν να προκληθούν από προηγμένα τελικά προϊόντα γλυκοζυλίωσης σε άτομα με διαβήτη, υποδεικνύοντας μια πιθανή σύνδεση αυτών των μηχανισμών με τη διαβητική αγγειακή νόσο. (Atherton & Born, 1972).

- Αλληλεπίδραση Αιμοπεταλίων και Λευκοκυττάρων

Η προσκόλληση των αιμοπεταλίων και η κύλιση των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο αποτελούν το πρώτο στάδιο μιας πολυσταδιακής διαδικασίας που οδηγεί στην εξαγγείωση λευκών αιμοσφαιρίων σε περιοχές φλεγμονής ή μόλυνσης. Αυτή η αλληλεπίδραση και η συσσώρευση αιμοπεταλίων και λευκοκυττάρων δημιουργούν μια θρομβογόνο επιφάνεια, με αποτέλεσμα την αγγειακή απόφραξη. Τα αιμοπετάλα μπορούν να κολλήσουν και σε ένα φαινομενικά άθικτο ενδοθήλιο που έχει φλεγμονή από διαφορετικά ερεθίσματα, όπως μόλυνση, μηχανική αλλοίωση ή ισχαιμία και επαναιμάτωση, ή σε ενδοθήλιο που βρίσκεται σε επιρρεπείς σε βλάβες θέσεις. Η διαδικασία αυτή είναι γρήγορη και πραγματοποιείται με την απελευθέρωση προσχηματισμένων συστατικών από το ενδοθήλιο, συμπεριλαμβανομένων των σωμάτων Weibel-Palade και του παράγοντα von Willebrand, καθώς και της P-σελεκτίνης. Αυτοί παράγοντες είναι οι κύριοι προαγωγοί της προσκόλλησης των αιμοπεταλίων και των λευκοκυττάρων. Η P-σελεκτίνη συμβάλλει τόσο στην προσκόλληση των λευκοκυττάρων όσο και των αιμοπεταλίων και κατά τη διάρκεια της έκκρισης συγχωνεύεται με την ενδοθηλιακή πλασματική μεμβράνη. Η διαδικασία κύλισης των λευκοκυττάρων ξεκινά με την έκκριση της P-σελεκτίνης και ολοκληρώνεται

με την προσκόλληση των λευκοκυττάρων και τη μετανάστευσή τους σε φλεγμονώδη ιστό (Peramaiyan et al., 2013).

- Ρύθμιση του Αγγειακού Τόνου και της Ανάπτυξης

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της κυκλοφορία του αίματος ως φυσικό φραγμό και ως πηγή ποικίλων ρυθμιστικών ουσιών. Μεταξύ αυτών, το μονοξειδίο του αζώτου και η προστακυκλίνη απελευθερώνονται ανταποκρινόμενα σε φυσικά ερεθίσματα, ορμόνες και ουσίες από αιμοπετάλια, προκαλώντας χαλάρωση των αγγείων και αναστολή της λειτουργίας των αιμοπεταλίων. Επιπλέον, ορισμένες ουσίες μπορεί να προκαλέσουν υπερπόλωση των λείων μυϊκών κυττάρων. Τα ECs, εκκρίνουν επίσης παράγοντες που επάγουν συστολή, όπως η ενδοθηλίνη, η θρομβοξάνη A₂, η αγγειοτενσίνη II, το υπεροξειδίο και άλλοι παράγοντες συστολής, τουλάχιστον σε ορισμένες συνθήκες. Επιπλέον, απελευθερώνουν αναστολείς και προωθητές ανάπτυξης, όπως ηπαρίνη και θεικές ηπαρίνες, καθώς και τον αυξητικό παράγοντα που προέρχεται από αιμοπετάλια και θρομβοσπονδίνη. Πολλές αγγειοδραστικές ουσίες που παράγονται από το ενδοθήλιο, όπως το μονοξειδίο του αζώτου, η ενδοθηλίνη και η αγγειοτενσίνη II, μπορούν επίσης να επηρεάσουν τη ρύθμιση της αγγειακής ανάπτυξης. Επομένως, το ενδοθηλιακό στρώμα διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στον έλεγχο του αγγειακού τόνου και της ανάπτυξης των αγγείων. Η δυσλειτουργία αυτών των ρυθμιστικών συστημάτων που εξαρτώνται από το ενδοθήλιο μπορεί να συμβάλει σε καρδιαγγειακές παθήσεις, όπως η υπέρταση και η αθηροσκλήρωση (Barton, Baretella & Meyer, 2012).

- Κυτταρικός Πολλαπλασιασμός και Αγγειογένεση

Το ενδοθήλιο συμμετέχει στον σχηματισμό νέων αγγείων καθώς συντονίζει τη δραστηριότητα διαφορετικών τύπων κυττάρων. Ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας (VEGF) και οι αγγειοποιητίνες, ειδικά τα μέλη της οικογένειας των εφρινών, έχουν σημαντικό ρόλο στον έλεγχο του αγγειακού σχηματισμού. Σύμφωνα με ένα μοντέλο, ο VEGF είναι κρίσιμος για την έναρξη του σχηματισμού αγγείων, ενώ οι Ang1 και ephrinB2 συμβάλλουν στην περαιτέρω αναδιαμόρφωση και ωρίμανση του αγγειακού συστήματος. Αυτό το μοντέλο υποστηρίζει ότι ο VEGF είναι ο οδηγός της αρχικής αγγειογένεσης, ενώ οι Ang1 και ephrinB2 συντελούν στη σταθεροποίηση και ωρίμανση των αγγείων (Michiels, 2003).

2.6. Σημασία της αγγειακής υγείας

Είναι ευρέως γνωστή η σημασία του ενδοθηλίου στη ρύθμιση του αγγειακού τόνου, της αγγειακής διαπερατότητας, της θρομβογένεσης, της φλεγμονής και της αγγειογένεσης (Pugsley & Tabrizchi, 2000). Αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας των εσωτερικών οργάνων έναντι εξωτερικών κινδύνων (Rocha-e-Silva, 2016). Τα ECs ελέγχουν την αγγειακή λειτουργία ανταποκρινόμενα σε διάφορες ορμόνες, νευροδιαβιβαστές και αγγειοδραστικούς παράγοντες που επηρεάζουν την αγγειοκινητικότητα, τη θρόμβωση, τη συσσώρευση αιμοπεταλίων και φλεγμονή (Phillips et al., 2017; Landmesser, Hornig & Drexler, 2004). Πρόκειται για ένα δυναμικό, ετερογενές, διάχυτο όργανο που διαθέτει ζωτικές εκκριτικές, συνθετικές, μεταβολικές και ανοσολογικές λειτουργίες (Fishman, 1982; Cines et al., 1998). Η αγγειακή διαπερατότητα ελέγχεται στενά από έναν αριθμό εξωκυτταρικών ερεθισμάτων και μεσολαβητών για τη διατήρηση της αγγειακής ομοιοστασίας. Έτσι, η διαταραχή της λειτουργίας του ενδοθηλιακού φραγμού προκαλεί αγγειακή υπερδιαπερατότητα, προάγοντας την ανάπτυξη και εξέλιξη διαφόρων ασθενειών, όπως χρόνια φλεγμονή, άσθμα, οίδημα, σήψη, σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας, αναφυλαξία, αγγειογένεση όγκου και διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια μεταξύ άλλων (Duluc, & Wojciak-Stothard, 2014; Park-Windhol, & D'Amore, 2016 ;Rho, Ando, & Fukuhara, 2017). Με αυτόν τον τρόπο το ενδοθήλιο παίζει καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση της λειτουργίας των αιμοφόρων αγγείων και είναι ένας σημαντικός προγνωστικός δείκτης της αρτηριακής λειτουργίας και του καρδιαγγειακού κινδύνου (Phillips, 2017).

3. Μόρια κυτταρικής προσκόλλησης και κυτταρικές ενδοθηλιακές συνδέσεις

3.1.Μόρια κυτταρικής προσκόλλησης

Τα μόρια κυτταρικής προσκόλλησης αναγνωρίστηκαν αρχικά μέσω της ικανότητάς τους να επιτρέπουν στα κύτταρα να προσκολλώνται μεταξύ τους αλλά και στην εξωκυττάρια μήτρα (ECM). Αυτή η ομάδα υποδοχέων κυτταρικής επιφάνειας όχι μόνο προάγει την προσκόλληση αλλά επιτρέπει επίσης στα κύτταρα να αλληλεπιδρούν και να επικοινωνούν μεταξύ τους και με το περιβάλλον τους και, με αυτόν τον τρόπο, ρυθμίζει μια σειρά

κυτταρικών λειτουργιών, συμπεριλαμβανομένου του πολλαπλασιασμού, της γονιδιακής έκφρασης, διαφοροποίησης, απόπτωσης και μετανάστευσης.

Τα μόρια κυτταρικής προσκόλλησης ταξινομούνται με βάση τη λειτουργία, τη δομή και τη θέση τους. Υπάρχουν τέσσερις κύριες ομάδες μορίων κυτταρικής προσκόλλησης: οι ιντεγκρίνες, οι σελεκτίνες, τα μόρια προσκόλλησης που ανήκουν στην υπερικογένεια των ανοσοσφαιρινών και οι καντχερίνες. Μια ακόμη ομάδα μορίων προσκόλλησης αποτελεί η οικογένεια των πρωτεϊνών CD44.

Ιντεγκρίνες: Πρόκειται για μεγάλες διαμεμβρανικές πρωτεΐνες, οι οποίες αποτελούνται από δύο υπομονάδες, μια αλυσίδα α και μια αλυσίδα β. Η υπομονάδα α παρέχει πληροφορίες για τη σύνδεση του προσδέτη, ενώ η β είναι υπεύθυνη για τη σύνδεση με τον κυτταροσκελετό. Υπάρχουν τουλάχιστον 15 υπομονάδες α και 8 υπομονάδες β και μπορούν να εντοπιστούν σε διάφορους συνδυασμούς. Είναι γνωστές τουλάχιστον 19 ιντεγκρίνες με διαφορετικούς συνδυασμούς υπομονάδων α και β και πλέον η οικογένεια αυτή ταξινομείται με βάση τις δομικά διακριτές β υπομονάδες σε οκτώ υποοικογένειες. Αυτά τα μόρια κυτταρικής προσκόλλησης εμπλέκονται τόσο σε διακυτταρικές αλληλεπιδράσεις, όσο και σε αλληλεπιδράσεις μεταξύ κυττάρου και μήτρας, οι οποίες είναι σημαντικές για τη ρύθμιση της κυτταρικής μετανάστευσης. Οι ιντεγκρίνες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην εμβρυογένεση, την επούλωση τραυμάτων αλλά και την ανοσολογική απόκριση. Καθοριστική είναι η συμβολή τους και στη συμπεριφορά των κακοήθων κυττάρων (Elangbam, Qualls, & Dahlgren, 1997).

Σελεκτίνες: Αποτελούν μια οικογένεια μορίων κυτταρικής προσκόλλησης που απαντώνται στην επιφάνεια λευκοκυττάρων, ενδοθηλιακών κυττάρων και αιμοπεταλίων και αποτελούνται από τρία μέλη: την E-σελεκτίνη, την P-σελεκτίνη και την L-σελεκτίνη. Αυτά τα μόρια προσκόλλησης επηρεάζουν τον εντοπισμό των κυκλοφορούντων λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο στο σημείο της φλεγμονής. Η προσκόλληση λευκοκυττάρων που μεσολαβείται από τη σελεκτίνη είναι ένα πρώιμο γεγονός στις αποκρίσεις προσκόλλησης, προάγει την προσκόλληση μη ενεργοποιημένων λευκοκυττάρων στο ενεργοποιημένο ενδοθήλιο και είναι υπεύθυνη για την "κύλιση" των λευκοκυττάρων, παροδικό στάδιο της προσκόλλησης των λευκοκυττάρων. Ύστερα από την κύλιση, η προσκόλληση των λευκοκυττάρων στο ενδοθήλιο επιτυγχάνεται με τη συμβολή των ενδοθηλιακών πρωτεϊνών με τομείς ανοσοσφαιρίνης, όπως το μόριο αγγειακής προσκόλλησης - 1 (VCAM-1) και το μόριο δια-κυτταρικής προσκόλλησης - 1 (ICAM).

Υπεροικογένεια Ανοσοσφαιρινών: Χαρακτηρίζεται από επικράτειες ανοσοσφαιρίνης και περιλαμβάνει το αντιγόνο λειτουργίας λευκοκυττάρων - 2 (LFA 2 ή CD2), το αντιγόνο λειτουργίας λευκοκυττάρων - 3 (LFA 3 ή CD58), μόρια δια-κυτταρικής προσκόλλησης (ICAMs), το μόριο αγγειακής κυτταρικής προσκόλλησης (VCAM-1), το μόριο προσκόλλησης αιμοπεταλίου - ενδοθηλίου - 1 (PE-CAM-1) και το πιο πρόσφατο μέλος της υπερικογένειας, το μόριο προσκόλλησης κυττάρων βλεννογόνου -1 (MAdCAM - 1). Ο LFA 2 αποτελεί ένα μόριο σηματοδότησης που εκφράζεται σε θυμοκύτταρα, ώριμα T κύτταρα και κύτταρα φυσικού φονέα (NK). Τα ICAM βοηθούν στον εντοπισμό των λευκοκυττάρων σε περιοχές τραυματισμού των ιστών. Τρία μέλη των ICAM αναγνωρίζονται: ICAM - 1 (CD54), ICAM-2 (CD102) και ICAM-3 (CD50). Πολλές κυτοκίνες όπως η γ-ιντερφερόνη, η ιντερλευκίνη 1 (IL-1) και ο νεκρωτικός παράγοντας όγκων α (TNF-α) επάγουν την έκφραση μορίων ενδοκυτταρικής προσκόλλησης στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων, διευκολύνοντας με αυτόν τον τρόπο την προσκόλληση λευκοκυττάρων που εκφράζουν αντίστοιχους υποδοχείς όπως οι β2 ιντεγκρίνες. Οι αλληλεπιδράσεις ICAM/ιντεγκρίνης παρέχουν έναν μηχανισμό για επιλεκτική στρατολόγηση λευκοκυττάρων σε διαφορετικές παθολογικές καταστάσεις. Το VCAM-1 εκφράζεται σε ενεργοποιημένα ενδοθηλιακά κύτταρα και ρυθμίζει την προσκόλληση, μονοκυττάρων, λεμφοκυττάρων, βασεόφιλων και ηωσινόφιλων σε ενδοθηλιακά κύτταρα που ενεργοποιούνται από λιποπολυσακχαρίτες, IL-1 ή τον TNF-α. Τέλος, το PE-CAM-1 εκφράζεται σε μεγάλες ποσότητες στα ενδοθηλιακά κύτταρα στις μεσοκυτταρικές συνδέσεις και σε μικρότερο βαθμό στα αιμοπετάλια και στα περισσότερα λευκοκύτταρα, ενώ το MAdCAM-1, εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό από τα ενδοθηλιακά κύτταρα σε περιοχές των βλεννογόνων και είναι ένας υποδοχέας τόσο για την α4β6 όσο και για την L-σελεκτίνη. Η αλληλεπίδραση της α4β7 και του MAdCAM-1 πιστεύεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην κυκλοφορία των λεμφοκυττάρων στις περιοχές των βλεννογόνων. (Elangbam et al., 1997).

Καντχερίνες: Αποτελούν μια ασβεστοεξαρτώμενη υπερικογένεια μορίων δια-κυτταρικής προσκόλλησης που εμπλέκονται στη δημιουργία και τη διατήρηση διακυτταρικών συνδέσεων. Η δομική και λειτουργική ακεραιότητα των καντχερινών διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στη διατήρηση της αρχιτεκτονικής των ενήλικων ιστών. Μια εκτενέστερη περιγραφή της υπερικογένειας των καντχερινών αναλύεται στο Κεφάλαιο 2 αυτής της εργασίας.

CD44: Πρόκειται για γλυκοπρωτεΐνες που αποτελούν μέλη της οικογένειας των υαλουρονικών υποδοχέων των μορίων κυτταρικής προσκόλλησης. Αυτή η ομάδα

πρωτεϊνών προσδένεται σε συνδέτες της εξωκυττάριας μήτρας (ECM). Το υαλουρονικό, ένας πολυσακχαρίτης που εντοπίζεται σε αφθονία στην εξωκυττάρια μήτρα των θηλαστικών, αποτελεί τον κύριο συνδέτη. Το CD44, συνδέεται με το υαλουρονικό και φαίνεται να έχει πολλές λειτουργίες, οι οποίες εξαρτώνται από τη δομή της πρωτεΐνης (Goodison, Urquidi & Tarin, 1999).

Όλα τα μόρια κυτταρικής προσκόλλησης συνδέονται με άλλα κύτταρα ή συστατικά εξωκυττάριας μήτρας μέσω αλληλεπίδρασης με κατάλληλα μόρια, που αναφέρονται ως συνδέτες. Σε ορισμένες περιπτώσεις οι συνδέτες είναι οι ίδιοι μόρια προσκόλλησης, όπως συμβαίνει με την οικογένεια της σελεκτίνης, της οποίας οι συνδέτες είναι μέλη της υπεροικογένειας των ανοσοσφαιρινών, και αντίστροφα. Τα μόρια κυτταρικής προσκόλλησης είναι κρίσιμα για πολλές φυσιολογικές διεργασίες. Κατά τη διάρκεια της εμβρυογένεσης, για παράδειγμα, η διαφορική έκφραση των μορίων προσκόλλησης είναι υπεύθυνη για την επιλεκτική σύνδεση των εμβρυϊκών κυττάρων σε συγκεκριμένους ιστούς και στο ανοσοποιητικό σύστημα τα μόρια προσκόλλησης μεσολαβούν στη μετανάστευση και την επιστροφή των λεμφοκυττάρων σε συγκεκριμένους ιστούς. Τα μόρια κυτταρικής προσκόλλησης εμπλέκονται επίσης σε πολλές διαφορετικές διαδικασίες όπως η επούλωση τραυμάτων αλλά και σε παθολογικές διεργασίες όπως η φλεγμονή, το σηπτικό σοκ, η απόρριψη μοσχεύματος, ο καρκίνος και η αθηροσκλήρωση. Μια κατανόηση του ρόλου των μορίων προσκόλλησης σε αυτές τις διαδικασίες έχει προτείνει τη χρήση τους ως διαγνωστικούς δείκτες, είτε ως πιθανούς στόχους για θεραπευτική παρέμβαση (Murray, Frampton & Nelson, 1999).

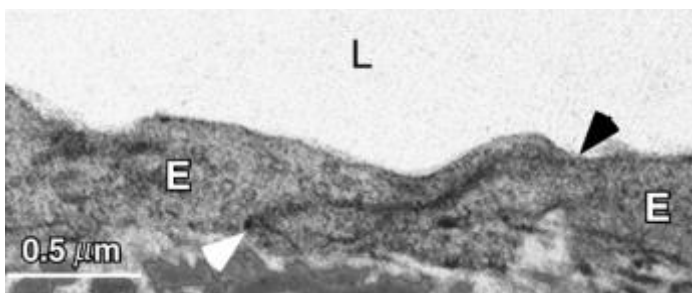
Σε αυτή τη βιβλιογραφική ανασκόπηση θα δοθεί ιδιαίτερη σημασία στην οικογένεια των καντχερινών και συγκεκριμένα στην αγγειακή ενδοθηλιακή καντχερίνη (vascular endothelial cadherin – VE-cadherin).

3.2. Κυτταρικές ενδοθηλιακές συνδέσεις

Οι ενδοθηλιακές κυτταρικές συνδέσεις περιέχουν πολύπλοκες δομές σύνδεσης και συγκεκριμένα τους συνδέσμους πρόσφυσης (Adherens junctions – AJ), τους στενοσυνδέσμους (Tight junctions – TJ) και τους χασμοσυνδέσμους (Gap junctions – GJ). Οι σύνδεσμοι αυτοί παίζουν καθοριστικό ρόλο στην ακεραιότητα των ιστών, στη λειτουργία φραγμού και στην επικοινωνία μεταξύ των κυττάρων, αντίστοιχα. Όπως έχει ήδη αναφερθεί παραπάνω, το ενδοθήλιο αποτελεί τον αγγειακό φραγμό με ρυθμιζόμενες ιδιότητες

διαπερατότητας μεταξύ του αίματος και των υποκείμενων ιστών. Το εν ηρεμία ενδοθήλιο μπορεί να υποβληθεί σε ερεθίσματα που προκαλούν εξαγγείωση λευκοκυττάρων σε φλεγμονώδεις θέσεις και επαγωγή αγγειογένεσης. Και οι δύο διαδικασίες έχουν ισχυρό αντίκτυπο στις δια-κυτταρικές ενδοθηλιακές συνδέσεις.

Αν και οι δομές σύνδεσης μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων μοιάζουν αρκετά με αυτές μεταξύ των επιθηλιακών, η οργάνωσή τους είναι πιο μεταβλητή, και η τοπολογία τους είναι λιγότερο περιορισμένη σε σύγκριση με αντίστοιχες δομές στα επιθηλιακά κύτταρα. Οι AJ, TJ και GJ συχνά αναμειγνύονται και σχηματίζουν ένα πολύπλοκο σύστημα με διακυμάνσεις ως προς το βάθος και το πάχος της υπομεμβρανικής πλάκας που σχετίζονται με τη δομή σύνδεσης. Σε αντίθεση με τα επιθηλιακά κύτταρα, οι GJs συχνά παρατηρούνται κοντά στην επιφάνεια του αυλού, και επομένως ο όρος "ακρορριζική διασταύρωση" που χρησιμοποιείται για να περιγράψει συλλογικά τους επιθηλιακούς TJ και AJ ενδέχεται να μην είναι κατάλληλος για το ενδοθήλιο. Μια άλλη διαφορά μεταξύ του μικροαγγειακού ενδοθηλίου και άλλων αγγειακών κυττάρων αφορά το πάχος του κυτταρικού σώματος. Συνήθως, το πάχος του κυτταρικού σώματος του μικροαγγειακού ενδοθηλίου είναι μικρότερο από 0,3 μm . Γειτονικά ενδοθηλιακά κύτταρα σχηματίζουν περιοχές επαφής που κυμαίνονται από 0,5 έως 0,9 μm . Ωστόσο, σε άλλα αγγεία, όπως αρτηρίες και υψηλά ενδοθηλιακά φλεβίδια, οι επαφές μεταξύ ενδοθηλιακών κυττάρων μπορεί να φτάσουν τα 3–10 μm (Εικόνα 2). Έξω από τις πυκνές σε ηλεκτρόνια δομές σύνδεσης, η μεσοκυττάρια σχισμή επενδύεται από παράλληλες πλασματικές μεμβράνες γειτονικών κυττάρων που χωρίζονται κατά 10-20 nm.



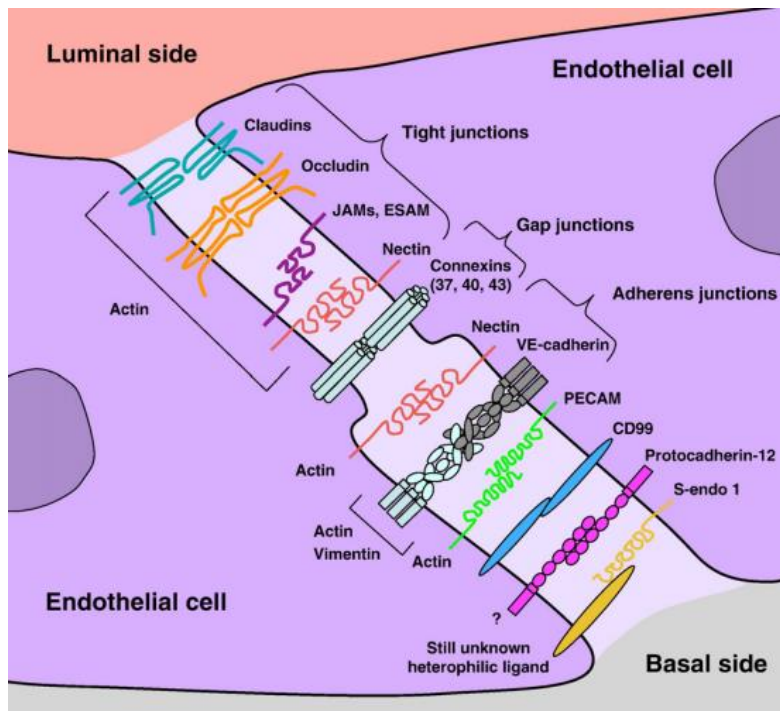
Εικόνα 2. Ηλεκτρονική μικρογραφία μιας ενδοθηλιακής σύνδεσης σε αορτή ποντικού (Wallez & Huber, 2008).

Επιπλέον, οι ενδοθηλιακές συνδέσεις διαφέρουν από αυτές των επιθηλιακών. Τα ενδιάμεσα νημάτια βιμεντίνης στο ενδοθήλιο, συνδέονται ελάχιστα με τις δια-κυτταρικές συνδέσεις. Ωστόσο, σε αντίθεση με τα επιθηλιακά κύτταρα, τα νημάτια βιμεντίνης μπορεί να

συνδέονται με τους ενδοθηλιακούς AJ σε δομές παρόμοιες με τα δεσμοσώματα, που ονομάζονται “συμπλέγματα προσκόλλησης”. Αυτές οι δομές, που περιγράφηκαν αρχικά στο λεμφικό ενδοθήλιο, μπορεί να υπάρχουν σε διάφορα μέρη του αγγειακού δικτύου. Πρέπει να τονιστεί ότι οι δια- ενδοθηλιακές συνδέσεις είναι δυναμικές δομές, που υπόκεινται σε πολλαπλούς κανονισμούς. Επιπλέον, τα λευκοκύτταρα εξαγγειώνονται σε φλεγμονώδεις θέσεις (κυρίως σε μετατριχοειδή φλεβίδια) είτε μέσω δια-κυτταρικών είτε μέσω παρα-κυτταρικών οδών. Η εξαγγείωση μέσω των δια-κυτταρικών συνδέσεων είναι μια ταχεία και ρυθμιζόμενη διαδικασία, κατά την οποία το λευκοκύτταρο συμπιέζεται στη σχισμή (διαπέδηση), ακολουθούμενη από ταχεία αναμόρφωση της ένωσης (Wallez & Huber, 2008)

3.3. Πρωτεΐνες προσκόλλησης που βρίσκονται στις ενδοθηλιακές δια-κυτταρικές επαφές

Στις μεσοενδοθηλιακές επαφές εντοπίζεται ένας αριθμός πρωτεϊνών, οι οποίες επιδεικνύουν ομοφιλικές συγκολλητικές δράσεις, μερικές εκ’ των οποίων είναι ειδικές για τα ενδοθηλιακά κύτταρα, ενώ άλλες είναι κοινές σε επιθηλιακά κύτταρα, κύτταρα αίματος, λεία μυϊκά κύτταρα ή μεσαγγειακά/τροφοβλαστικά κύτταρα (Εικόνα 3). Αυτές οι πρωτεΐνες μπορεί να αποτελούν μέρος οργανωμένων δομών σύνδεσης, όπως η VE-καντχερίνη στο AJ, οι κλαουδίνες και η οκλουδίνη στο TJ, ή οι κοννεξίνες στο GJ, ενώ άλλες είναι ανεξάρτητες, όπως οι PECAM, CD99, S-endo-1 ή Pcdh12. Τα JAM συνδέονται με το TJ μέσω ενδοκυτταρικών συστατικών χωρίς να εμπλέκονται άμεσα στον σχηματισμό των συνδέσμων αυτών. Οι δια-ενδοθηλιακές συγκολλητικές πρωτεΐνες εμπλέκονται σε διαφορετικά επίπεδα στην αλληλεπίδραση ενδοθηλιακών κυττάρων μεταξύ τους και στην ακεραιότητα του ιστού. Ορισμένα από αυτά έχουν διπλή λειτουργία καθώς συμμετέχουν επίσης στην εξαγγείωση των λευκοκυττάρων μέσω ομοφιλικών ή ετερόφιλων αλληλεπιδράσεων.



Εικόνα 3. Συγκολλητικές πρωτεΐνες μεταξύ ενδοθηλιακών κυττάρων. Οι claudins, occluding, οι JAMs και οι ESAM βρίσκονται στις TJ, η VE-cadherin στις AJs και οι κοννεξίνες στους χασμοσυνδέσμους. Η νεκτίνη εντοπίζεται τόσο σε AJs όσο και σε TJs, ενώ τα PECAM, Pcdh12, CD99 και S-endo-1 βρίσκονται εκτός αυτών των δομών. Οι TJ και AJs συνδέονται και οι δύο με τον κυτταροσκελετό της ακτίνης και η VE-cadherin μπορεί επίσης να σχετίζεται με νημάτια βιμεντίνης σε ορισμένα αγγειακά συστήματα (Wallez & Huber, 2008).

4. Βιοδείκτες

Ο όρος βιοδείκτης ή βιολογικός δείκτης εισήχθη το 1989 ως όρος στο Medical Subject Heading (MeSH) και αναφέρεται ως εξής: μετρήσιμη και ποσοτικοποιήσιμη βιολογική παράμετρος που μπορεί να χρησιμεύσει ως δείκτης για την εκτίμηση της υγείας, όπως για παράδειγμα ο κίνδυνος εμφάνισης ασθένειας, οι ψυχιατρικές διαταραχές, η περιβαλλοντική έκθεση και το αντίκτυπό της, η διάγνωση ασθενειών και οι μεταβολικές διεργασίες μεταξύ άλλων. Το 2001, μια ομάδα του National Institute of Health (NIH) τυποποίησε τον ορισμό του βιοδείκτη ως «ένα χαρακτηριστικό που μετράται αντικειμενικά και αξιολογείται ως δείκτης φυσιολογικών βιολογικών διεργασιών, παθογόνων διεργασιών ή φαρμακολογικών ανταποκρίσεων σε μια θεραπευτική παρέμβαση» και προσδιόρισε τους διάφορους τύπους βιοδεικτών (Vasan, 2006; Biomarkers Definitions Working Group, 2001). Υπάρχουν πολλοί τρόποι ταξινόμησης των βιοδεικτών. Οι βιοδείκτες μπορεί να είναι απλά μόρια όπως μεταβολίτες, υδατάνθρακες, στεροειδή και λιπίδια, λιγότερο απλοί όπως πεπτίδια και πρωτεΐνες, ή ακόμα και πιο σύνθετοι όπως κύτταρα (Jain, 2017).

Οι βιοδείκτες είναι παρόντες σε όλα τα μέρη του σώματος συμπεριλαμβανομένων των σωματικών υγρών και των ιστών. Ακόμη και η εκπνεόμενη αναπνοή περιέχει βιοδείκτες (Jain, 2017). Ένας βιοδείκτης μπορεί να μετρηθεί σε ένα βιολογικό δείγμα όπως για παράδειγμα από κάποια εξέταση αίματος, ούρων ή ιστού, μπορεί να είναι μια καταγραφή που λαμβάνεται από ένα άτομο, όπως η αρτηριακή πίεση, το ηλεκτροκαρδιογράφημα (ΗΚΓ) ή Holter ή μπορεί να είναι μια εξέταση απεικόνισης όπως η ηχοκαρδιογράφημα ή η αξονική τομογραφία (Vasan, 2006). Οι βιοδείκτες μπορούν να υποδεικνύουν μια ποικιλία χαρακτηριστικών υγείας ή ασθένειας. Μεταξύ αυτών των χαρακτηριστικών περιλαμβάνονται το επίπεδο ή ο τύπος έκθεσης σε έναν περιβαλλοντικό παράγοντα, η γενετική ευαισθησία και η γενετική απόκριση στις διάφορες εκθέσεις, μπορούν να αποτελούν δείκτες υποκλινικής ή κλινικής νόσου ή δείκτες απόκρισης σε θεραπεία. Είναι δυνατόν, λοιπόν, να χαρακτηριστούν ως δείκτες του χαρακτηριστικού της νόσου (παράγοντες κινδύνου), κατάστασης της νόσου ή εξέλιξης της (Fox, & Growdon, 2004). Ωστόσο, ένας βιοδείκτης δεν είναι μια εκτίμηση του τρόπου με τον οποίο ένα άτομο αισθάνεται, λειτουργεί ή επιβιώνει. Κατά τον FDA (Food and Drug Administration), το γλωσσάριο BEST (Biomarkers, EndpointS and other Tools) ορίζει επτά κατηγορίες βιοδεικτών: τους βιοδείκτες ευαισθησίας ή κινδύνου, τους διαγνωστικούς, τους βιοδείκτες παρακολούθησης και τους προγνωστικούς, τους βιοδείκτες πρόβλεψης, τους φαρμακοδυναμικούς ή απόκρισης και τους βιοδείκτες ασφαλείας.

Έτσι λοιπόν, ένας βιοδείκτης θα μπορούσε να αντικατοπτρίζει ειδικά και με μεγάλη ευαισθησία την κατάσταση μιας νόσου και θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί τόσο για τη διάγνωση όσο και για την παρακολούθηση της νόσου κατά τη διάρκειά της αλλά και μετά τη θεραπεία της.

Ένας ιδανικός βιοδείκτης αποτελείται από τα ακόλουθα χαρακτηριστικά :

- Σύμφωνα με τον FDA, προκειμένου ένας βιοδείκτης να μπορεί να χαρακτηριστεί ιδανικός, πρέπει να σχετίζεται ειδικά με μια συγκεκριμένη ασθένεια ή μια κατάσταση της νόσου και να μπορεί να διαφοροποιηθεί από παρόμοιες φυσιολογικές συνθήκες
- Θα ήταν επιθυμητό να υπάρχουν συγκεκριμένες τυποποιημένες βιολογικές πηγές, οι οποίες θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για τον εντοπισμό των βιοδεικτών
- Τέλος, θα πρέπει να είναι διαθέσιμη μια απλή, γρήγορη, ακριβής και φθηνή ανίχνευση του δείκτη, σε συνδυασμό με ένα μετρήσιμο και στανταρ σημείο αναφοράς.

Ο ιδανικός βιοδείκτης θα πρέπει να έχει ένα προβλέψιμο επίπεδο έκφρασης: αυτό θα καταδεικνύει μια σαφή συσχέτιση μεταξύ μετρήσιμων καταστάσεων και πιθανών συνθηκών (Jain, 2017).

5. Ρόλος βιοδεικτών στην εκτίμηση της αγγειακής δυσλειτουργίας

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα (CVD) είναι η κύρια αιτία νοσηρότητας αλλά και θνησιμότητας στις αναπτυγμένες χώρες. Η εξέλιξη των παραγόντων κινδύνου έχει συμβάλλει στην εμφάνιση υποκλινικής νόσου. Οι στρατηγικές πρωτογενούς και δευτερογενούς πρόληψης έναντι της καρδιαγγειακής νόσου αποτελούν προτεραιότητα της δημόσιας υγείας. Η κλινική αξιολόγηση και η διατμηματική απεικόνιση αποτελούν ακρογωνιαίους λίθους όσον αφορά την αντιμετώπιση των ασθενών. Παρόλα αυτά διαθέτουν περιορισμούς. Υπάρχει αυξανόμενο ενδιαφέρον για τη χρήση νέων δεικτών καρδιαγγειακής νόσου ως εργαλεία προσυμπτωματικού ελέγχου και αξιολόγησης κινδύνου για την ενίσχυση της ικανότητας αναγνώρισης των «ευάλωτων» ασθενών. Οι βιοδείκτες είναι ένα τέτοιο εργαλείο για τον καλύτερο εντοπισμό ατόμων υψηλού κινδύνου, για την έγκαιρη και ακριβή διάγνωση παθήσεων αλλά και για την αποτελεσματική πρόγνωση και θεραπεία ασθενών (Fitridge & Thompson, 2011; Vasan, 2006).

6. sVE- cadherin ως δυνητικός βιοδείκτης

Κύριες αιτίες ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας αποτελούν οι παράγοντες καρδιαγγειακού και αιμοδυναμικού κινδύνου. Είναι γνωστό ότι το ενδοθήλιο καταστρέφεται σε σημεία έντονης τυρβώδους ροής του αίματος. Τα λιπίδια διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο, καθώς οι αυξημένες συγκεντρώσεις τους στο πλάσμα μπορεί να οδηγήσουν στη συσσώρευσή τους στον υποενδοθηλιακό χώρο, όπου, αφού υποστούν διάφορες τροποποιήσεις, διεγείρουν την έκφραση των μορίων προσκόλλησης και αρχίζει η φλεγμονώδης διαδικασία. Τα μόρια προσκόλλησης είναι ζωτικής σημασίας για τη στρατολόγηση των κυττάρων προς το εσωτερικό του αγγειακού τοιχώματος. Δεδομένου ότι οι διαλυτές μορφές τους μπορούν να εμφανιστούν στο πλάσμα, διάφορες μελέτες έχουν συσχετίσει τις συγκεντρώσεις τους με τον κίνδυνο καρδιαγγειακών επεισοδίων (Martín-Ventura et al., 2009).

7. Σκοπός

Κύριος στόχος της παρούσας βιβλιογραφικής εργασίας είναι η κατανόηση του πως μπορεί η soluble VE-cadherin να χρησιμοποιηθεί ως διαγνωστικό εργαλείο για την ανίχνευση αλλά και την παρακολούθηση της αγγειακής δυσλειτουργίας. Πιο συγκεκριμένα, στον σκοπό της εργασίας περιλαμβάνονται η κατανόηση της δομής και λειτουργίας της sVE – cadherin, η εκτίμηση της σχέσης της με την αγγειακή δυσλειτουργία, αλλά και η αξιολόγηση της χρήσης της ως δυνητικού διαγνωστικού εργαλείου μέσω της παράθεσης ερευνητικών εργασιών σχετιζόμενων με το θέμα για μια καλύτερη κατανόηση και αξιολόγηση της σημασίας της.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΑΓΓΕΙΑΚΗ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ

1. Γενικά

Όλα τα ενδοθηλιακά κύτταρα μοιράζονται ένα κοινό σύνολο λειτουργιών συμπεριλαμβανομένων της ρύθμισης της ομοιόστασης, της διατήρησης της αγγειακής διαπερατότητας, της μεσολάβησης τόσο της οξείας όσο και της χρόνιας ανοσολογικής απόκρισης, σε διάφορους τύπους τραυματισμών αλλά και της ρύθμισης του αγγειακού τόνου. Κατά τις διαδικασίες αυτές το ενδοθήλιο απελευθερώνει διάφορους αγγειοσυσπαστικούς παράγοντες, όπως είναι η ενδοθηλίνη-1, αλλά και αγγειοδιασταλτικούς παράγοντες, όπως το μονοξείδιο του αζώτου (NO), ο ενδοθηλιακός υπερπολωτικός παράγοντας (EDHF), τα νατριουρητικά πεπτίδια, η προστακυκλίνη (Mombouli and Vanhoutte, 1999; Busse and Fleming, 2006; Moncada and Higgs, 2006; Spieker et al., 2006) και το υδρόθειο (H₂S), το οποίο δρα συνεργατικά με το NO (Yang et al., 2008; Cortese-Krott et al., 2015; Yuan et al., 2015). Οι προερχόμενοι από το ενδοθήλιο αγγειοδιασταλτικοί παράγοντες, διαθέτουν αντιπηκτικές ιδιότητες, καταστέλλουν την αγγειακή στένωση και το σχηματισμό θρόμβων και επιβραδύνουν την καρδιακή υπερτροφία (Ritchie et al., 2009). Οι αγγειοδραστικοί αυτοί παράγοντες που προέρχονται από το ενδοθήλιο δρουν μαζί με άλλα ρυθμιστικά συστήματα, τα οποία αποτελούνται από διάφορους αγγειοσυσπαστικούς παράγοντες όπως οι κατεχολαμίνες και αγγειοδραστικά πεπτίδια όπως η αγγειοτενσίνη II και η αγγειοπρεσίνη (Daiber et al., 2017). Η ισορροπία μεταξύ αγγειοδιασταλτικών και αγγειοσυσπαστικών παραγόντων είναι σημαντική για τη διατήρηση της ομοιοστατικής κατάστασης των αιμοφόρων αγγείων (Imig, 2020).

Το σηματοδοτικό μονοπάτι το NO αποτελεί από τις πιο κρίσιμες μοριακές διεργασίες που διέπουν τις σημαντικές λειτουργίες των ECs. Το NO αποτελεί ένα μικρό, διαλυτό αέριο με

ισχυρές αγγειοδιασταλτικές, αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές ιδιότητες που διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στη διατήρηση της αγγειακής ομοιόστασης. Έτσι λοιπόν, η έννοια της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας (ED) συνδέεται ρητά με τη μειωμένη παραγωγή και ευαισθησία του NO, η οποία τελικά οδηγεί σε ανισορροπία της αγγειακής ομοιόστασης που οδηγεί σε ένα προθρομβωτικό, προφλεγμονώδες και λιγότερο εύκαμπτο τοίχωμα των αιμοφόρων αγγείων. Το NO συντίθεται από 3 διαφορετικούς υποτύπους του ενζύμου συνθάση του NO (NOS), ο καθένας με μοναδικά πρότυπα έκφρασης και λειτουργικές ιδιότητες: νευρωνική NOS (nNOS, NOS1), επαγωγίμη NOS (iNOS, NOS2) και ενδοθηλιακή NOS (eNOS, NOS3). Η τελευταία εκφράζεται κυρίως στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Το NO που παράγεται από την eNOS αυξάνεται κυρίως σημαντικά με την αύξηση των συγκεντρώσεων ασβεστίου δευτερογενώς, λόγω της εξάρτησής της από την καλμοδουλίνη (CaM). Η λειτουργία της eNOS είναι κρίσιμη για τη διατήρηση της κατάλληλης αγγειακής ομοιόστασης. Η σηματοδότηση του NO οδηγεί άμεσα σε διαστολή των αιμοφόρων αγγείων διεγείροντας τη διαλυτή γουανυλοκυκλάση, οδηγώντας σε αύξηση της κυκλικής μονοφωσφορικής γουανοσίνης και επακόλουθη χαλάρωση του αγγειακού λείου μυός. Το NO έχει πολλαπλούς άλλους διακριτούς ρόλους στην αγγειακή φυσιολογία, ιδίως στη θρόμβωση και στον αγγειακό τόνο, έχει κεντρική σημασία για τη διατήρηση της αγγειακής ομοιόστασης (Cyr et al., 2020).

Η ανισορροπία στον σχηματισμό και την απελευθέρωση των αγγειοδραστικών παραγόντων αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για την ανάπτυξη ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, η οποία επιδεινώνεται περαιτέρω από το οξειδωτικό στρες, προφλεγμονώδους παράγοντες και μειωμένη τη βιοδιαθεσιμότητα του NO (Munzel et al., 1999; Kahler et al., 2000).

Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την ενδοθηλιακή λειτουργία περιλαμβάνουν τον γλυκοκάλυκα, ο οποίος διαδραματίζει ουσιαστικό ρόλο στην προσκόλληση των λευκοκυττάρων και των αιμοπεταλίων, ο αριθμός και η ποιότητα των κυκλοφορούντων ενδοθηλιακών προγονικών κυττάρων (EPCs) λόγω των επιδιορθωτικών τους ιδιοτήτων στο δυσλειτουργικό ενδοθήλιο, καθώς και διάφορες διεργασίες που διαδραματίζονται εντός του λείου μυός (van den Berg et al., 2006; Werner et al., 2005; Hill et al., 2003; Stasch et al., 2006). Αναγνωρίζεται πλέον επίσης, ότι ο περιαγγειακός λιπώδης ιστός (PVAT) συμβάλλει στην αγγειακή ομοιόσταση με την παραγωγή αγγειοδραστικών ενώσεων, όπως οι λιποκίνες, οι δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS) και το -NO (Brown et al., 2014; Jankovic et al., 2017). Η αγγειακή δυσλειτουργία περιλαμβάνει τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου (ενδοθηλιακή δυσλειτουργία), τη μικροαγγειακή δυσλειτουργία και τη δυσλειτουργία των μεγάλων αρτηριών λόγω της αρτηριακής δυσκαμψίας (Peairs et al., 2017).

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω η αγγειακή δυσλειτουργία είναι μια κατάσταση κατά την οποία το ενδοθήλιο δεν λειτουργεί σωστά οδηγώντας σε μειωμένη αγγειοδιαστολή, φλεγμονή και αυξημένη θρόμβωση. Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία σχετίζεται με μειωμένη παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου, μείωση των αντιπηκτικών ιδιοτήτων, αυξημένη συσσώρευση αιμοπεταλίων, αυξημένη έκφραση μορίων προσκόλλησης, αυξημένη έκφραση χημειοκινών και κυτταροκινών και αυξημένη παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου από το ενδοθήλιο. Αυτή η δυσλειτουργία συνδέεται με πολλές καρδιαγγειακές παθήσεις, όπως υπέρταση, στεφανιαία νόσος, χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια, περιφερική αγγειακή νόσο, διαβήτης, χρόνια νεφρική ανεπάρκεια και σοβαρές ιικές λοιμώξεις. Αναλυτικότερα, οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να προκαλέσουν ζημιά στο ενδοθήλιο, ενώ πολλοί παράγοντες, όπως παχυσαρκία, κάπνισμα, έλλειψη ύπνου, μικροβιακές λοιμώξεις, υψηλή πρόσληψη γλυκόζης και έκθεση σε μέταλλα και ρυπαντές, μπορούν να αυξήσουν τον αριθμό των ελεύθερων ριζών. Οι ελεύθερες ρίζες διαταράσσουν την ισορροπία του NO καθιστώντας το ενδοθήλιο αρκετά διαπερατό σε τοξίνες οι οποίες περνούν στους ιστούς (Rubanyi & Vanhoutte, 1986). Σε αυτές τις περιπτώσεις κύτταρα που θα έπρεπε να παραμείνουν στο αίμα μπορούν να περάσουν μέσα από τα αιμοφόρα αγγεία στο προσκείμενο ιστό του σώματος. Κάποια από αυτά τα πρωτεϊνικά στοιχεία περιλαμβάνουν την C- αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP), η οποία παράγεται στο ήπαρ και προκαλεί φλεγμονή. Σε πολλές περιπτώσεις, ο ανθρώπινος οργανισμός έχει επαρκή ποσότητα σε αντιοξειδωτικά που προέρχονται από διάφορα τρόφιμα για να αντιμετωπίσει τις ελεύθερες ρίζες. Ωστόσο, αν υπάρξει έλλειψη αυτών των αντιοξειδωτικών στον οργανισμό, ή αν υπάρχουν υπερβολικά πολλοί συνυπάρχοντες παράγοντες, μπορεί να προκύψει ζημιά στο ενδοθήλιο και να αλλάξει η ισορροπία του NO (Devaraj, Singh & Jialal, 2009). Όταν αναστέλλεται η δράση του NO, η ενδοθηλιακή σηματοδότηση μπορεί να διαταραχθεί, με αποτέλεσμα την εμφάνιση εκτεταμένων ασθενειών. Η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου συνδέεται με διάφορα προβλήματα, όπως η αθηροσκλήρωση, η αγγειογένεση στον καρκίνο και άλλα νοσήματα. Αυτή η κατάσταση μπορεί να προκαλείται από παράγοντες όπως διαβήτης, υπέρταση, κάπνισμα και έλλειψη φυσικής δραστηριότητας (Hadi, Carr & Al Suwaidi, 2005; Rajendran, 2013). Σύμφωνα με τη Longmore Clinic (2023), στους παράγοντες οι οποίοι ενισχύουν τον κίνδυνο αγγειακής δυσλειτουργίας περιλαμβάνονται η ηλικία, το οικογενειακό ιστορικό, η παχυσαρκία, ο καθιστικός τρόπος ζωής αλλά και ανθυγιεινή διατροφή, καθώς δίαιτες με υψηλή περιεκτικότητα σε τρανς λιπαρά, κορεσμένα λιπαρά και επεξεργασμένα σάκχαρα μπορούν να βλάψουν το ενδοθήλιο.

2. Συνέπειες της αγγειακής δυσλειτουργίας

Σε γενικές γραμμές, οι μηχανισμοί που υποστηρίζουν την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία μπορούν να τοποθετηθούν σε 2 βασικές κατηγορίες: τις καταναλωτικές διεργασίες κατά τις οποίες το βιοδιαθέσιμο NO μετατρέπεται σε άλλα είδη και τις ανεπάρκειες στην παραγωγή NO στο ενδοθήλιο. Τα σηματοδοτικά μονοπάτια του NO, που περιλαμβάνουν τη ρύθμιση της παραγωγής NO καθώς και την ενεργοποίηση δευτερογενών αγγελιοφόρων, συνδέονται σε μεγάλο βαθμό με μια ποικιλία παθολογιών.

Η πρόωμη ενδοθηλιακή δυσλειτουργία μειώνει την αγγειοδιαστολή προκαλώντας διήθηση κυττάρων φλεγμονής στο εσωτερικό των αγγείων και ήπια φλεγμονή (Sato, 2012). Η συνθάση του NO (eNOS) παράγεται σε υψηλές συγκεντρώσεις από το ενδοθήλιο, συγκεκριμένα στο νεφρικό μυελό, όπου διατηρεί τη μυελική ροή του αίματος σε απόκριση σε νεφρικά αγγειοσυσταλτικά, όπως η αγγειοτενσίνη II. Ενδοθηλιακή βλάβη ή εξωγενής δράση ελεύθερων ριζών μειώνει τη δραστηριότητα της eNOS. Οι δραστικές ρίζες οξυγόνου (ROS) μπορεί να επηρεάσουν τις επιδράσεις των αγγειοδραστικών παραγόντων, οδηγώντας έτσι σε αυξημένη αγγειακή αντίσταση και οξεία νεφρική βλάβη (Basile & Yoder, 2014; Xu et al., 2020).

Η παρουσία ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας στο πνευμονικό αγγειακό σύστημα είναι γνωστή στην πνευμονική αρτηριακή υπέρταση, η οποία συνοδεύεται συνήθως από δυσλειτουργία της δεξιάς κοιλίας. Σε αυτή την πάθηση, η eNOS της πνευμονικής αρτηρίας είναι συχνά αποσυνδεδεμένη, προωθώντας την παραγωγή ριζών O₂ και οδηγώντας σε μειωμένη παραγωγή NO (Cyr et al., 2020).

Η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση υψηλής αρτηριακής πίεσης, διότι επηρεάζει τόσο τον έλεγχο του αγγειακού τόνου όσο και τη δομή των αιμοφόρων αγγείων. Η LDL, που προκύπτει από υπερλιπιδαιμία που σχετίζεται με την παχυσαρκία, μπορεί να κατατεθεί στον εσωτερικό χιτώνα των αιμοφόρων αγγείων και να οξειδωθεί, ενεργοποιώντας τα ενδοθηλιακά κύτταρα για την προσέλκυση μονοκυττάρων. Τα μονοκύτταρα, μετατρέπονται σε μακροφάγα, αφομοιώνοντας την οξειδωμένη LDL και προκαλώντας τη δημιουργία αφοκυττάρων. Αυτά τα αφοκυτταρα παράγουν αυξητικούς παράγοντες που προκαλούν τη σύνθεση κολλαγόνου και τη μετανάστευση λείων μυϊκών κυττάρων στον έσω χιτώνα, ο οποίος αρχίζει να πολλαπλασιάζεται και να εκκρίνει εξωκυττάρια θεμέλια ουσία, με αποτέλεσμα την πάχυνση του αρτηριακού έσω χιτώνα. Αυτή η πάχυνση μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρά καρδιαγγειακά

νοσήματα, όπως εγκεφαλικό επεισόδιο, ισχαιμική νόσο και συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια (Matjuda et al., 2021).

Παρατεταμένη βλάβη η οποία προκαλείται από υπεργλυκαιμία ή υπέρταση των μικροαγγείων του αμφιβληστροειδούς οδηγεί σε διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια. Η υπεργλυκαιμία αυξάνει τα επίπεδα του επαγόμενου από την υποξία μεταγραφικού παράγοντα HIF-1 και του ινσουλινοειδούς αυξητικού παράγοντα IGF-1. Υπερέκφραση των παραγόντων αυτών σε συνδυασμό με άλλους παράγοντες οδηγεί σε μετασχηματισμό των ακτινωτών νευρογλοιακών κυττάρων Müller προς χρόνια φλεγμονώδη κύτταρα καθώς και επακόλουθη υπερκέκφραση και συσσώρευση του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF) που προκαλεί ανάπτυξη ινοβλαστών, οδηγώντας έτσι στην εμφάνιση ίνωσης (Gui et al., 2020; Mrugacz et al., 2021) Η μικροαγγειακή δυσλειτουργία είναι δυνατόν να προκύψει και από αρτηριακή δυσκαμψία, η οποία συνδέεται με τη φυσιολογική αλλά και την επιταχυνόμενη διαδικασία της γήρανσης. Ευρύτερη επίπτωση της αρτηριακής δυσκαμψίας αποτελεί η βλάβη στο μικροαγγειακό σύστημα ιδιαίτερα στον εγκέφαλο και τα νεφρά (Grover-Paéz & Zavalza-Go´mez, 2009; Matjuda et al., 2021).

3. Αναγκαιότητα χρήση αξιόπιστων βιοδεικτών για έγκαιρη ανίχνευση και παρακολούθηση.

Η αξιολόγηση της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας είναι κλινικά χρήσιμη για την ανίχνευση της αγγειακής νόσου σε πολύ πρώιμο στάδιο, τη διαχείριση του καρδιαγγειακού κινδύνου, την παρακολούθηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία και τον εντοπισμό νέων θεραπευτικών επιλογών. Μπορεί να εκτιμηθεί στη στεφανιαία ή στην περιφερική κυκλοφορία. Πολλές παραδοσιακές τεχνικές για την εκτίμηση της αγγειακής λειτουργίας και δυσλειτουργίας έχουν αναπτυχθεί, ωστόσο, δεν αποτελούν καλές εφαρμογές, λόγω των περιοριστικών τους παραγόντων, όπως το υψηλό κόστος, ο επεμβατικός χαρακτήρας, η χαμηλή διαθεσιμότητα ή η πολυπλοκότητα των μεθόδων τους.

Οι ενδοθηλιακοί βιοδείκτες του αίματος έχουν αναδειχθεί ως σημαντικές εναλλακτικές λύσεις στις παραδοσιακές μεθόδους για τη διάγνωση και τη διαστρωμάτωση του κινδύνου εμφάνισης ασθενειών του καρδιαγγειακού συστήματος στα πρώιμα στάδια. Οι βιοδείκτες θα μπορούσαν να αποτελέσουν έναν πιο αξιόπιστο, ειδικό, λεπτομερή, εύκολο και φθινό τρόπο αξιολόγησης της ενδοθηλιακής λειτουργίας και δυσλειτουργίας. Έτσι, παρά την εγγενή βιολογική μεταβλητότητα των ιδιοτήτων του αγγειακού ενδοθηλίου σε διάφορες

περιοχές, η αναζήτηση νέων βιοδεικτών είναι ζωτικής σημασίας για τη βελτίωση της κατανόησης της καρδιαγγειακής νόσου, της πρόληψής της και της πρόγνωσής της.

Ένας αξιόπιστος ενδοθηλιακός βιοδείκτης πρέπει να πληροί ορισμένες σημαντικές προϋποθέσεις. Πρέπει να είναι ειδικός για το ενδοθήλιο και να αντιπροσωπεύει την υποκείμενη νόσο. Επιπλέον, πρέπει να είναι αναπαραγώγιμος και να παρέχει χρήσιμες πληροφορίες για την κλινική αξιολόγηση με μία μόνο εκτίμηση. Επίσης, θα πρέπει να συσχετίζεται με τη σοβαρότητα της νόσου και να είναι δυνατόν να ποσοτικοποιείται με απλές και οικονομικές μεθόδους (Leite et al., 2020).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΑΓΓΕΙΑΚΗ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΗ ΚΑΝΤΧΕΡΙΝΗ (VASCULAR ENDOTHELIAL CADHERIN – ve-cadherin)

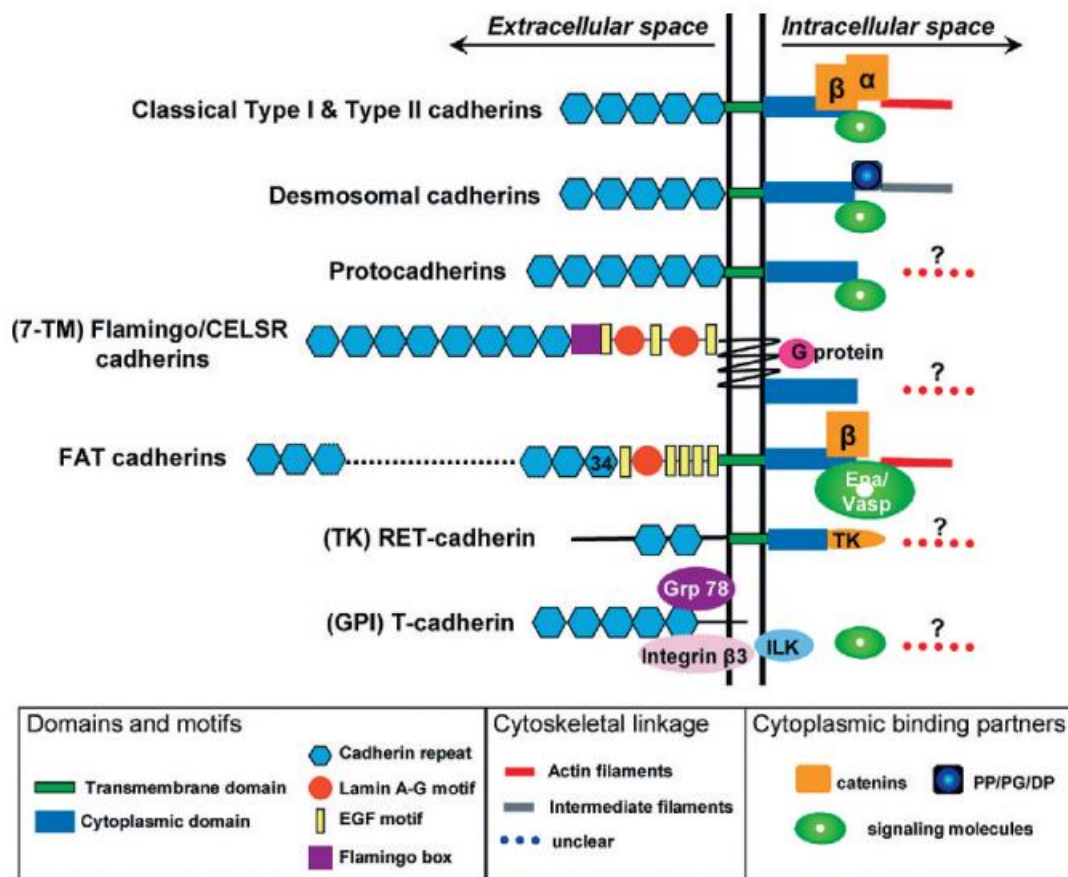
1. Υπεροικογένεια καντχερινών

Οι καντχερίνες αντιπροσωπεύουν μια υπεροικογένεια ενσωματωμένων μεμβρανικών γλυκοπρωτεϊνών, η οποία στα σπονδυλωτά αποτελείται από περισσότερα από 100 μέλη. Αυτά τα μέλη είναι χωρισμένα σε υποοικογένειες με βάση συγκρίσεις στην αλληλουχία των αμινοξέων και σε δομικά χαρακτηριστικά. Κάποιες από αυτές τις υποοικογένειες περιλαμβάνουν τις κλασικές καντχερίνες Τύπου I και Τύπου II, τις δεσμοσωμικές καντχερίνες, τις πρωτοκαντχερίνες, Flamingo/CELSR και τις καντχερίνες FAT. Υπάρχει επίσης ένας αριθμός μελών της οικογένειας, όπως η T-καντχερίνη, η LI-καντχερίνη και η πρωτοογκοπρωτεΐνη RET, μεταξύ άλλων, οι οποίες δεν εντάσσονται ακριβώς σε μια καθορισμένη υποοικογένεια. Οι καντχερίνες είναι ιδιαίτερα σημαντικές για τη δυναμική ρύθμιση των δια-κυτταρικών συγκολλητικών επαφών κατά τη διάρκεια διάφορων διεργασιών μορφογένεσης (Resink et al., 2009).

Τα μέλη της οικογένειας των καντχερινών αποτελούνται από μια εξωκυτταρική περιοχή η οποία αποτελείται από μία ή περισσότερες επαναλαμβανόμενες υπομονάδες, γνωστές ως επαναλήψεις καντχερίνης. Οι επαναλήψεις αυτές περιέχουν συντηρημένες δομές οι οποίες συμμετέχουν στη δέσμευση ασβεστίου. Οι επαναλήψεις καντχερίνης εμπλέκονται σε cis- ή trans- αλληλεπιδράσεις μεταξύ των εξωκυτταρικών δομών, οι οποίες οδηγούν σε ομοφιλική σύνδεση (ή ετεροφιλική σε κάποιες περιπτώσεις) μεταξύ των μορίων καντχερίνης. Ο αριθμός των επαναλήψεων καντχερίνης μπορεί να ποικίλει, συμβάλλοντας σε μια

διαφορετική δομική διάταξη της εξωκυτταρικής περιοχής. Με λίγες εξαιρέσεις, κατά κύριο λόγο οι καντχερίνες είναι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες. Οι κλασικές καντχερίνες Τύπου I, όπως Epithelial (E)-, Neural (N)-, Placental (P)-, Retinal (R)- και Τύπου II, όπως VE-cadherin, οι δεσμοσωμικές καντχερίνες (όπως δεσμογλεΐνες, δεσμοκολίνες), οι πρωτοκαντχερίνες (όπως R-, CNR-, ARCADLIN-) και οι καντχερίνες FAT είναι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες. Αντίθετα, οι καντχερίνες Flamingo/CELSR έχουν μια διαμεμβρανική περιοχή με επτά διελεύσεις από την κυτταρική μεμβράνη, παρόμοια με αυτήν των συζευγμένων με πρωτεΐνη G υποδοχέων. Η T- καντχερίνη δεν περιέχει ούτε διαμεμβρανική, ούτε κυτταροπλασματική περιοχή και συνδέεται με την πλασματική μεμβράνη μέσω μια λιπιδικής άγκυρας γλυκοζυλοφωσφατιδυλινοσιτόλης (GPI). Τα μέλη της καντχερίνης Τύπου I, σε αντίθεση με τα μέλη καντχερίνης Τύπου II ή άλλων καντχερινών, διαθέτουν την αλληλουχία αναγνώρισης προσκόλλησης κυττάρων HAV (ιστιδίνη-αλανίνη-βαλίνη) στη N-τελική εξωκυτταρική λειτουργική μονάδα τους. Η ενδοκυτταρική περιοχή δεν διατηρείται μεταξύ των υποοικογενειών καντχερίνης.

Η υπεροικογένεια καντχερίνης έχει πολλαπλές βιολογικές λειτουργίες πέραν της απλής προσκόλλησης κυττάρων (Wheelock & Johnson, 2003). Οι κλασικές και δεσμοσωμικές καντχερίνες λειτουργούν ως μόρια προσκόλλησης, αλλά τα περισσότερα άλλα μέλη καντχερίνης δεν εμφανίζουν απαραίτητα ισχυρές συγκολλητικές δραστηριότητες. Οι λειτουργίες των καντχερινών επεκτείνονται σε πολλές πτυχές της οργάνωσης και της μορφογένεσης των ιστών. Αυτές περιλαμβάνουν την αναγνώριση και ταξινόμηση κυττάρων, τον σχηματισμό ορίων στους ιστούς, την επαγωγή και τη διατήρηση της δομικής και λειτουργικής πολικότητας των κυττάρων και των ιστών, την κυτταροσκελετική οργάνωση, τη διαμόρφωση κυτταρικού φαινοτύπου, την κυτταρική μετανάστευση, τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και την κυτταρική επιβίωση. Αυτές οι διαφορετικές λειτουργίες προάγονται από την ικανότητα των πρωτεϊνών αυτών να πυροδοτούν μεταγωγή σήματος στο κυτταρόπλασμα και τον πυρήνα μέσω αλληλεπιδράσεων της ενδοκυτταρικής περιοχής με μια ποικιλία εταίρων ενδοκυτταρικής δέσμευσης συμπεριλαμβανομένων ρυθμιστών κυτταροσκελετού, πρωτεϊνικών κινασών και φωσφατάσης και μεταγραφικών συμπαράγοντων. Επιπλέον, οι καντχερίνες μπορούν να επηρεάσουν τη σηματοδότηση και τη λειτουργία των κυττάρων μέσω πλευρικών αλληλεπιδράσεων της διαμεμβρανικής περιοχής με υποδοχείς αυξητικών παραγόντων και άλλων μορίων σηματοδότησης που βρίσκονται στην πλασματική μεμβράνη. Η ελαττωματική έκφραση ή λειτουργία της καντχερίνης αποτελεί χαρακτηριστικό πολλών παθολογικών καταστάσεων (Resink, 2009).



Εικόνα 4. Βασικές δομές χαρακτηριστικών μελών υπεροικογένειας καντχερινών. Σχηματική απεικόνιση βασικών δομικών χαρακτηριστικών μελών υπεροικογένειας καντχερινών. Όλα τα μέλη της υπεροικογένειας καντχερινών διαθέτουν «επαναλήψεις» δέσμευσης ασβεστίου ποικίλου αριθμού. Η FAT καντχερίνη είναι η μεγαλύτερη καντχερίνη, με 34 επαναλήψεις καντχερίνης. Οι μη κλασικές καντχερίνες έχουν κάποια πρόσθετα εξωκυτταρικά μοτίβα, όπως περιοχές λαμίνινης A-G και EGF και “κουτιά φλαμίνγκο”. Η κυτταροπλασματική περιοχή ποικίλλει πολύ μεταξύ των υποοικογενειών των καντχερινών (Resink, 2009).

Διάφορα είδη καντχερινών εντοπίζονται στην καρδιά, στα αιμοφόρα αγγεία, στα κύτταρα των λείων μυών και στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Τα καρδιομυοκύτταρα εκφράζουν την κλασική N-καντχερίνη Τύπου I, τις δεσμοσωμικές καντχερίνες, τη δεσμογλεΐνη 2 (DSG2) και τη δεσμοκολίνη 2 (DSC2) και την T-καντχερίνη. Οι καντχερίνες που προσδιορίζονται επί του παρόντος στα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα (VSMC) περιλαμβάνουν τις κλασικές Τύπου I N- και R-καντχερίνες, την T-καντχερίνη και την καντχερίνη FAT1. Ανοσοϊστοχημικές μελέτες έχουν δείξει ότι η E-cadherin εκφράζεται στα περισσότερα ECs, ενώ η P-cadherin εντοπίζεται κυρίως στην βασική ή στις κατώτερες στιβάδες των στρωματοποιημένων επιθηλιακών κυττάρων του πλακούντα και συνεκφράζεται με την E-cadherin. Η N-cadherin αποτελεί κύριο μόριο προσκόλλησης στον ενήλιο νεφρό καθώς εντοπίζεται στη βασική πλευρά των σωληναριακών κυττάρων σε όλο το μήκος του νεφρώνα του φυσιολογικού νεφρού ενήλικου. Επιπλέον, εκφράζεται στους νευρικούς ιστούς, τους

μύες και τους φακούς των ματιών (Elangbam et al., 1997). Τα ECs εκφράζουν την αγγειακή ενδοθηλιακή καντχερίνη (ve – cadherin), την N- και την T- καντχερίνη. Η ve- cadherin εκφράζεται αποκλειστικά στα ECs και είναι η καντχερίνη που συμμετέχει στις συνδέσεις προσκόλλησης των ECs (Resink, 2009). Στην παρούσα εργασία θα ασχοληθούμε πιο αναλυτικά με την VE-cadherin.

2. Αγγειακή ενδοθηλιακή καντχερίνη (VE-cadherin) - Δομή

Η VE-cadherin έχει αναδυθεί ως ένα μόριο προσκόλλησης με θεμελιώδη ρόλο στην μικροαγγειακή διαπερατότητα και σε μορφογενετικά και πολλαπλασιαστικά συμβάντα που σχετίζονται με την αγγειογένεση. Όπως και άλλες καντχερίνες, η VE-cadherin μεσολαβεί στην εξαρτώμενη από το ασβέστιο, ομοφιλική προσκόλληση και λειτουργεί ως σημείο προσκόλλησης της πλασματικής μεμβράνης με τον κυτταροσκελετό. Η VE-cadherin συμμετέχει σε μονοπάτια σηματοδότησης και κυτταρικά συστήματα που είναι εξαιρετικά σημαντικά για το αγγειακό ενδοθήλιο. Οι πρόσφατες ανακαλύψεις στον τομέα της βιολογίας και της φυσιολογίας των ενδοθηλιακών κυττάρων αποκαλύπτουν ιδιότητες της VE-cadherin που ενδέχεται να είναι διαφορετικές μεταξύ των μελών της οικογένειας των μορίων προσκόλλησης καντχερίνης. Εξαιτίας αυτών των λόγων, η VE-cadherin αντιπροσωπεύει μια καντχερίνη που παραμένει πρωτότυπη εντός της οικογένειας των καντχερινών, αλλά ταυτόχρονα διαθέτει μοναδικές λειτουργικές και φυσιολογικές ιδιότητες (Vincent et al., 2004).

Η VE-cadherin αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά το 1991 από τους Suzuki, Sano και Tanihara (Suzuki, Sano, & Tanihara, 1991) οι οποίοι κλωνοποίησαν το cDNA για οκτώ νέα μέλη της οικογένειας των καντχερινών, ένα από τα οποία (ο κλώνος 5) μπορούσε να εντοπιστεί σε ενδοθηλιακά κύτταρα. Το 1992, οι Lampugnani et al., παρήγαγαν ένα μονοκλωνικό αντίσωμα (7B4) που επισήμανε μια πρωτεΐνη που εντοπίζεται στα μεσοκυτταρικά όρια καλλιιεργημένων ενδοθηλιακών κυττάρων. Το αντιγόνο 7B4 απουσίαζε σε ινοβλάστες, λεία μυϊκά κύτταρα και κερατινοκύτταρα. Ο χαρακτηρισμός του αντισώματος 7B4 έδειξε ότι το αντιγόνο εντοπίζεται σε έναν αριθμό ιστών στα μεσοκυτταρικά όρια των ECs στο αίμα και στα λεμφικά αγγεία. Το μονοκλωνικό αντίσωμα 7B4 ανοσοκατακρήμνισε μια πρωτεΐνη μοριακού βάρους 140-kDa η οποία, κατά τον προσδιορισμό της αμινοτελικής αλληλουχίας, αποκάλυψε ότι πρόκειται για τον κλώνο 5 (καντχερίνη 5) που ταυτοποιήθηκε από τους Suzuki et al.. Ακόμη, μία μελέτη των Breviario et al., έδειξε ότι η έκφραση του πλήρους μήκους του κλώνου 5 σε κύτταρα ωοθήκης κινέζικου χάμστερ (CHO) παρήγαγε μια

πρωτεΐνη μοριακού βάρους 140-kDa η οποία εντοπίστηκε στα όρια μεταξύ των κυττάρων. Αυτή η πρωτεΐνη μεσολαβούσε σε μια ασβεστοεξαρτώμενη ομοφιλική σύνδεση μεταξύ των κυττάρων και μείωνε τη διαπερατότητα στα υψηλού μοριακού βάρους μόρια διεμέσου της κυτταρικής μονοστιβάδας των CHO. Οι συγκρίσεις των αλληλουχιών αποκάλυψαν ότι η καντχερίνη-5 μοιράζεται αρκετά δομικά χαρακτηριστικά με άλλα μέλη της οικογένειας των καντχερινών. Αυτά περιλαμβάνουν πέντε επαναλήψεις στον εξωκυτταρικό τομέα, μια διαμεμβρανική περιοχή με μία διέλευση και μια καλά συντηρημένη κυτταροπλασματική ουρά. Με βάση αυτές τις δομικές ομοιότητες με την οικογένεια των καντχερινών και λόγω της εκλεκτικής έκφρασής της στα ενδοθηλιακά κύτταρα, η καντχερίνη-5 αναφέρεται ως αγγειακή ενδοθηλιακή καντχερίνη (VE-cadherin) (Breviario et al., 1995; Vincent et al., 2004).

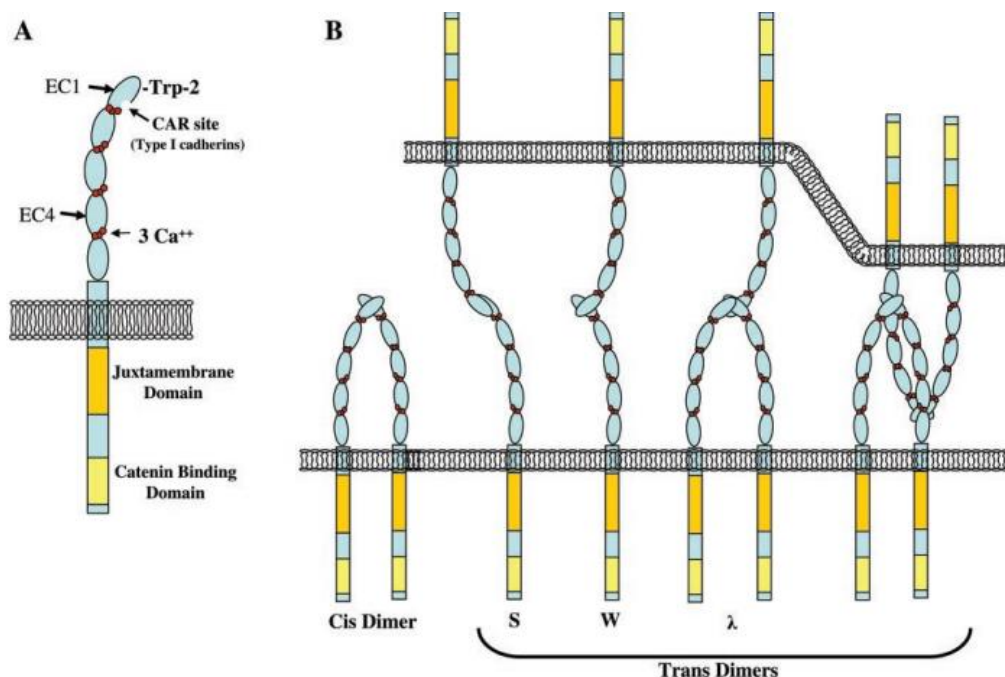
Η VE-cadherin μπορεί να ομαδοποιηθεί στις καντχερίνες Τύπου II με βάση τη γονιδιακή της δομή. Το γονίδιο της ανθρώπινης VE-cadherin βρίσκεται σε ένα σύμπλεγμα γονιδίων σε μια περιοχή στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 16 που εμπλέκεται στην απώλεια συμβάντων ετεροζυγωτίας στον καρκίνο του μαστού και του προστάτη. Αυτό το γονίδιο κωδικοποιεί μια κλασική καντχερίνη της υπεροικογένειας καντχερινών και αποτελείται από 12 εξόνια που εκτείνονται σε περισσότερο από 36 kb. Όπως τα άλλα χαρακτηρισμένα γονίδια καντχερίνης, το γονίδιο της VE-cadherin φιλοξενεί μεγάλα εσώνια, ειδικά στο 5' άκρο. Το σταθερά μεγάλο μέγεθος των ιντρονίων του γονιδίου καντχερίνης μπορεί να είναι σημαντικό για τη μεταγραφική ρύθμιση. Η κωδικοποιημένη προ-πρωτεΐνη υποβάλλεται σε πρωτεολυτική επεξεργασία για να δημιουργηθεί η ώριμη γλυκοπρωτεΐνη. Αυτό το εξαρτώμενο από ασβέστιο μόριο δια-κυτταρικής προσκόλλησης αποτελείται από πέντε εξωκυτταρικές επαναλήψεις καντχερίνης κάθε μια από τις οποίες αποτελείται από περίπου 110 αμινοξέα, μια διαμεμβρανική περιοχή και μια εξαιρετικά συντηρημένη κυτταροπλασματική ουρά. Λειτουργώντας ως κλασική καντχερίνη μεταδίδοντας στα κύτταρα την ικανότητα να προσκολλώνται με ομοφιλικό τρόπο, αυτή η πρωτεΐνη παίζει ρόλο στη συναρμολόγηση και τη συντήρηση της σύνδεσης των ενδοθηλιακών κυττάρων (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/1003>). Η VE-cadherin είναι ειδική για το ενδοθήλιο και στο έμβryo, εκφράζεται σε πολύ πρώιμα στάδια (E7.5) της αγγειακής ανάπτυξης σε μεσοδερμικά κύτταρα του μεσεγχύματος του λεκιθικού σάκου. Σε μεταγενέστερα εμβρυϊκά στάδια, η έκφραση της περιορίζεται στο περιφερικό στρώμα των νησιδίων του αίματος που δημιουργεί ενδοθηλιακά κύτταρα (Dejana, Orsenigo, & Lampugnani, 2008).

Αναλυτικότερα, η πρόδρομη περιοχή και η κυτταροπλασματική ουρά των άτυπων/ τύπου II καντχερινών κωδικοποιούνται από ένα μόνο εξόνιο, ενώ άλλες καντχερίνες περιέχουν

τουλάχιστον ένα ή περισσότερα εξόνια σε αυτές τις περιοχές. Οι καντχερίνες τύπου II, συμπεριλαμβανομένης της VE-καντχερίνης, περιλαμβάνουν επίσης δύο επιπλέον εσώνια στην αλληλουχία που κωδικοποιεί την εξωκυτταρική περιοχή, τα οποία δεν βρίσκονται σε άλλες οικογένειες καντχερινών. Επιπλέον, οι ομοιότητες στην αλληλουχία εντός της πρώτης επανάληψης καντχερίνης (EC1) έχουν χρησιμοποιηθεί για την ταξινόμηση των καντχερινών. Παρόλο που η VE-καντχερίνη κατατάσσεται ως καντχερίνη τύπου II, παρουσιάζει μόνο 58% ομολογία με την περιοχή EC1 της καντχερίνης 11, δηλαδή της πρωτότυπης καντχερίνης τύπου II (Nollet, Kools, & Van Roy, 2000). Όλες οι καντχερίνες Τύπου I, μοιράζονται στον EC1 τομέα τους μια τριπλή αλληλουχία αμινοξέων, HAV, η οποία ονομάζεται αλληλουχία αναγνώρισης προσκόλλησης κυττάρου (CAR) και η οποία είναι απαραίτητη για την διακυτταρική σύνδεση. Η αλληλουχία HAV έχει υποτεθεί ότι αλληλεπιδρά με ένα αμινοτελικό υπόλειμμα τρυπτοφάνης (Trp-2) το οποίο επίσης εντοπίζεται στον τομέα EC1. Η αλληλουχία αμινοξέων που περιβάλλει το Trp-2 υπόλειμμα είναι σε μεγάλο βαθμό συντηρημένη στην υποοικογένεια των καντχερινών Τύπου II (Blaschuk & Rowlands, 2002; Blaschuk et al., 1990; Leckband & Sivasankar, 2000). Τόσο οι καντχερίνες Τύπου II όσο και οι δεσμοσωμικές καντχερίνες διαθέτουν επίσης μια υποτιθέμενη θέση CAR που περιέχει μια κεντρική αλανίνη, αλλά τα γύρω υπολείμματα είναι διαφορετικά για κάθε υποοικογένεια. Εντούτις, η VE-cadherin είναι μία από τις δύο μόνο καντχερίνες που στερούνται κεντρικής αλανίνης στην περιοχή που αντιστοιχεί στη θέση CAR άλλων καντχερινών, αν και η VE-cadherin διαθέτει τρυπτοφάνη στη θέση 2 του τομέα EC1. Φυλογενετική ανάλυση της VE-cadherin έχει δείξει ότι η πρωτεΐνη αυτή, παρόλο που έχει ενταχθεί στις άτυπες/ Τύπου II καντχερίνες, αποτελεί “μακρινό συγγενή” των υπόλοιπων μελών της υποοικογένειας αυτής υπογραμμίζοντας τη μοναδική φύση αυτού του μορίου προσκόλλησης που είναι ειδική για το ενδοθήλιο. Στην ενδοκυτταρική και καρβοξυτελική της περιοχή η VE-cadherin συνδέεται με δύο ενδοκυτταρικές πρωτεΐνες, την β-κατενίνη και την πλακογλοβίνη.

Οι εξωκυτταρικές περιοχές των καντχερινών συμβάλλουν στην ομοφιλική δέσμευση και προσκόλληση των γειτονικών κυττάρων. Η εξωκυτταρική περιοχή της VE-cadherin αποτελείται από πέντε επαναλήψεις που μοιάζουν με καντχερίνη που σχηματίζουν μια άκαμπτη δομή που μοιάζει με ράβδο. Η δομή αυτή σταθεροποιείται με τη σύνδεση ιόντων ασβεστίου στις ενδιάμεσες αλληλουχίες που βρίσκονται στη βάση κάθε περιοχής. Πιστεύεται ότι οι καντχερίνες συνδέονται τόσο με cis όσο και με trans αλληλεπιδράσεις. Ο πλευρικός διμερισμός cis αναφέρεται στη σύνδεση δύο γειτονικών καντχερινών εντός της πλασματικής μεμβράνης ενός κυττάρου, ενώ ο trans διμερισμός αφορά την αλληλεπίδραση μεταξύ καντχερινών γειτονικών κυττάρων. Παρόλο που ο μηχανισμός της αλληλεπίδρασης cis των καντχερινών είναι αμφιλεγόμενος, οι μελέτες κρυσταλλογραφίας,

μεταλλαξιογένεσης και *in vitro* δέσμευσης υποστηρίζουν ότι ο διμερισμός *cis* απαιτείται για την διακυτταρική προσκόλληση με τη μεσολάβηση καντχερίνης. Έχουν προταθεί τρεις τριανς αλληλεπιδράσεις, οι S, W και λ, οι οποίες υποδυκνείουν το πως αλληλεπιδρούν οι περιοχές EC1 στον σχηματισμό *trans* διμερών μεταξύ καντχερινών γειτονικών κυττάρων. Ωστόσο, έχει προταθεί ένα ακόμη μοντέλο, το οποίο όμως υπάρχει μεγαλύτερη επικάλυψη μεταξύ καντχερινών σε διαφορετικά κύτταρα, όπου η περιοχή EC1 του ενός κυττάρου αλληλεπιδρά με την περιοχή EC4 ή EC5 του γειτονικού κυττάρου (Vincent et al., 2004) (Εικόνα 5). Η σημασία της εξωκυτταρικής περιοχής της VE-cadherin στη διαμεσολάβηση της λειτουργίας των ενδοθηλιακών κυττάρων έχει αποδειχθεί με τη χρήση αντισωμάτων στην περιοχή EC1 της VE-cadherin. Τα αντισώματα τα οποία στρέφονται εναντίον της εξωκυτταρικής περιοχής EC1 προκαλούν μείωση της λειτουργίας φραγμού των μονοστοιβάδων των ενδοθηλιακών κυττάρων *in vitro* και των αιμοφόρων αγγείων *in vivo* και διαταράσσουν την αγγειογένεση. Ωστόσο, τα αντισώματα στην τέταρτη επανάληψη καντχερίνης έχουν την δυνατότητα να αποτρέψουν την αγγειογένεση χωρίς να προκαλούν αλλαγές στην αγγειακή διαπερατότητα (Corada et al., 2001; Corada et al., 2002).



Εικόνα 5. Σχηματική αναπαράσταση (A) της οργάνωσης των τομέων των καντχερινών Τύπου I/II, (B) μοντέλων προσκόλλησης με βάση την καντχερίνη. (A) της οργάνωσης των τομέων των καντχερινών τύπου I/II με 5 επαναλήψεις καντχερίνης στην εξωκυτταρική περιοχή. Στην εικόνα εντοπίζεται η αμινοτελική τρυπτοφάνη (Trp-2) η θέση αναγνώρισης κυτταρικής προσκόλλησης (CAR) εντός της περιοχής EC1 καθώς και η τοποθεσία των θέσεων δέσμευσης Ca²⁺ μεταξύ κάθε επανάληψης καντχερίνης. Η κυτταροπλασματική περιοχή της VE-καντχερίνης περιλαμβάνει την «περιοχή της παραμεμβράνης» που δεσμεύει την ρ120-κατενίνη

(p120ctn) και τον «τομέα δέσμευσης κατενίνης» που αλληλεπιδρά με την β-κατενίνη και την πλακογλοβίνη. (B) μοντέλων προσκόλλησης με βάση τη καντχερίνη (Vincent et al., 2004).

3. Ρόλος στην προσκόλληση των ενδοθηλιακών κυττάρων και την αγγειακή λειτουργία

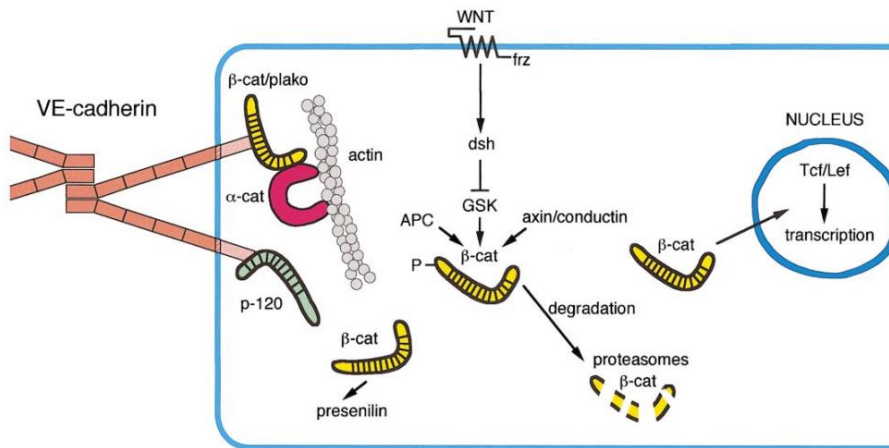
Κρίσιμο στοιχείο για την δημιουργία φραγμού μεταξύ του αίματος και των περιβαλλόντων ιστών είναι η διατήρηση της ενδοθηλιακής ακεραιότητας. Διαταραχή στον φραγμό αυτό μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία φλεγμονής και οιδήματος. Οι εξωκυττάρειες περιοχές της VE-cadherin συνδέονται μεταξύ τους σχηματίζοντας υπερσύμπλοκα που μοιάζουν με φερμουάρ και τα οποία παρέχουν ακεραιότητα μεταξύ των συνδέσεων πρόσφυσης των ενδοθηλιακών κυττάρων (Orczyk & Smolewska, 2020). Ο κυτταροπλασματικός τομέας VE-cadherin είναι απαραίτητος για τη σταθεροποίηση των δια-κυτταρικών συνδέσεων αλλά και για τη σύνδεση κυτταροπλασματικών μορίων που έχουν ενζυματικές δραστηριότητες. Η στρατολόγηση των μικρών GTPases και των παραγόντων ανταλλαγής νουκλεοτιδίων γουανίνης (GEFs) αλλά και των πρωτεϊνών ενεργοποίησης των GTPase (GAPs) είναι ιδιαίτερα κρίσιμη καθώς ελέγχουν την τοπική οργάνωση των νηματίων ακτίνης ρυθμίζοντας έτσι την πλαστικότητα των δια-κυτταρικών συνδέσεων (Lampugnani, Dejana, & Giampietro, 2018). Οι ενδοκυτταρικές περιοχές των VE-cadherin αλληλεπιδρούν με διάφορες κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες, ενισχύοντας την δια-κυτταρική προσκόλληση. Αυτές περιλαμβάνουν την β-κατενίνη και την πλακογλοβίνη. Αυτές οι πρωτεΐνες οι οποίες ανήκουν στην οικογένεια armadillo, μέσω της σύνδεσής τους με την α-κατενίνη, προάγουν την αγκυροβόληση της VE-cadherin με τον κυτταροσκελετό της ακτίνης. Οι κοντινές στην κυτταροπλασματική μεμβράνη ενδοκυτταρικές περιοχές των VE-cadherins παρουσιάζουν λειτουργικά χαρακτηριστικά και μπορούν να συνδεθούν με ενδοκυτταρικές ρυθμιστικές πρωτεΐνες. Στις περιοχές αυτές δεσμεύεται άλλη μια πρωτεΐνη της οικογένειας armadillo, η p120, η οποία συγγενεύει με την β-κατενίνη και την πλακογλοβίνη. Ωστόσο, η p120 δεν μπορεί να συνδεθεί με την α-κατενίνη. Η φωσφορυλίωση τυροσίνης της VE-cadherin οδηγεί σε μια πιο έντονη αλληλεπίδραση με την πρωτεΐνη p120 αυξάνοντας τη σταθεροποίηση του συμπλέγματος VE-cadherin-p120. Η αγκύρωση του συμπλόκου στον κυτταροσκελετό παίζει κρίσιμο ρόλο στη σταθεροποίηση των συνδέσεων και της VE-cadherin στην κυτταρική επιφάνεια και ελέγχει την εσωτερίκευση και την αποικοδόμησή της (Dejana, Bazzoni, & Lampugnani, 1999; Dejana & Vestweber, 2013). Μέχρι σήμερα, έχουν αναγνωριστεί πολλοί ενδοκυτταρικοί συνεργάτες της VE-cadherin. Ορισμένοι από αυτούς

όπως η VE-PTP, η PECAM ή η VEGFR2, είναι ιδικοί για τα ενδοθηλιακά κύτταρα και συνεπώς για την VE-cadherin (Giannotta, Trani, & Dejana, 2013).

Το δίκτυο σηματοδότησης που μεταδίδεται από την VE-cadherin είναι πολύπλοκο και ποικίλλει υπό διαφορετικές λειτουργικές συνθήκες και σε αναπτυσσόμενο ή σε ηρεμία αγγειακό σύστημα. Σε συνθήκες ηρεμίας, η σηματοδότηση μέσω της VE-cadherin προάγει την αγγειακή σταθερότητα, όπως η αναστολή της ανάπτυξης λόγω επαφής, η προστασία από την απόπτωση και ο έλεγχος της ενδοθηλιακής διαπερατότητας (Konstantoulaki, Kouklis, & Malik, 2003). Η VE-cadherin πυροδοτεί την έκφραση γονιδίων και συγκεκριμένα της claudin-5 και της αγγειακής ενδοθηλιακής πρωτεϊνικής φωσφατάσης τυροσίνης, επηρεάζοντας σημαντικά με αυτόν τον τρόπο την ενδοθηλιακή σταθερότητα. Η VE-cadherin μπορεί να σχηματίσει σημαντικά για τις δια-κυτταρικές συνδέσεις σύμπλοκα με διάφορα διακριτά διαμεμβρανικά σηματοδοτικά συστήματα, όπως με τον ενδοθηλικό υποδοχέα VEGF-2 (VEGFR2), την αγγειακή ενδοθηλιακή φωσφοτυροσινική φωσφατάση (VE-PTP), το σύμπλοκο του υποδοχέα του μετασχηματιστικού αυξητικού παράγοντα (TGF) β και τον υποδοχέα του αυξητικού παράγοντα των ινοβλαστών-1 (FGFR1). Η VE-cadherin συμμετέχει σε μια διαδικασία που ονομάζεται αναστολή επαφής της κυτταρικής ανάπτυξης, η οποία μεσολαβείται από τη δράση διαφορετικών μονοπατιών σηματοδότησης. Συγκεκριμένα, η VE-cadherin μπορεί να αλληλεπιδράσει και να συγκεντρωθεί με τους υποδοχείς αυξητικού παράγοντα (VEGFR2) και να ελέγξει το ενδοκυτταρικό τους σήμα (Dejana & Vestweber, 2013). Μπορεί επίσης να ελέγχει τη σηματοδότηση μέσω του περιορισμού της πυρηνικής μετατόπισης των κατενινών και άλλων πρωτεϊνών που ρυθμίζουν την κυτταρική μεταγραφή (Lampugnani, Dejana, & Giampietro, 2018).

Αναλυτικότερα, το σύμπλεγμα VE-cadherin -κατενίνης είναι δυναμικό και η σύνθεσή του μπορεί να αλλάξει ανάλογα με τη λειτουργική κατάσταση των κυττάρων. Κατά τα αρχικά στάδια σύνδεσης, η VE-cadherin είναι έντονα φωσφορυλιωμένη με τυροσίνη και συνδέεται κυρίως με την p120 και τη β -κατενίνη, ενώ όταν οι συνδέσεις ωριμάσουν, τα κατάλοιπα τυροσίνης στην VE-cadherin τείνουν να χάνουν τη φωσφορυλίωση οδηγώντας σε απόσπαση των p120 και η β -κατενίνης εν μέρει από το σύμπλοκο και αντικαθίστανται από την πλακογλοβίνη. Η α -κατενίνη μπορεί να συνδεθεί απευθείας με την F-ακτίνη, ωστόσο, σύνδεση αυτή μπορεί επίσης να διαμεσολαβείται από την α -ακτινίνη ή τη βινκουλίνη. Στη συνέχεια, οι αποδεσμευμένες από το σύμπλοκο p120 και β -κατενίνη, μπορούν να συμμετέχουν ελεύθερες σε μονοπάτια σηματοδότησης (Εικόνα 6). Η β -κατενίνη συμμετέχει άμεσα στον καταρράκτη σηματοδότησης του αυξητικού παράγοντα Wnt. Η πρόσδεση του αυξητικού παράγοντα Wnt στους υποδοχείς frizzled ενεργοποιούν την dishevelled, η οποία

με τη σειρά της αδρανοποιεί την κινάση-3 της συνθάσης του γλυκογόνου (GSK-3), η οποία στην ενεργή της μορφή είναι υπεύθυνη για τη φωσφορυλίωση και την ταχεία αδρανοποίηση της β-κατενίνης μέσω του ουβικουιτίνη-πρωτεασώματος. Η διαδικασία αυτή ελέγχεται από μια ομάδα μορίων, την APC, την αξίνη και την κοντουκτίνη, τα οποία με τη σύνδεσή τους με τη β-κατενίνη και την GSK-3 διευκολύνουν τη φωσφορυλίωση και την αποικοδόμηση της β-κατενίνης από το πρωτεάσωμα. Η ελεύθερη β-κατενίνη μπορεί να μετακινηθεί στον πυρήνα και να δεσμεύσει μεταγραφικούς παράγοντες της ομάδας υψηλής κινητικότητας (HMG), όπως οι Tcf και Lef. Εναλλακτικά, η β-κατενίνη μπορεί να συνδεθεί με την πρεσενιλίνη και ενδεχομένως να διαδραματίσει ρόλο στη ρύθμιση της κυτταρικής απόπτωσης (Dejana, Bazzoni, & Lampugnani, 1999).



Εικόνα 6. Σχηματική απεικόνιση της αλληλεπίδρασης της VE-cadherin με ενδοκυτταρικές πρωτεΐνες (Dejana, Bazzoni, & Lampugnani, 1999).

Μελέτες έχουν δείξει ότι στα ενδοθηλιακά κύτταρα, η αυξημένη φωσφορυλίωση τυροσίνης της β-κατενίνης και η υπορύθμιση της δραστηριότητας της φωσφατάσης συνδέονται με αυξημένη ενδοθηλιακή διαπερατότητα. Συγκεκριμένα, η φωσφορυλίωση τυροσίνης της β-κατενίνης που επάγεται από την πρωτεϊνική κινάση της οικογένειας του σαρκομεριδίου (Src) ή τον υποδοχέα VEGF ρυθμίζει αρνητικά την προσκόλληση, οδηγώντας σε διάσπαση της συνδέσεων πρόσφυσης. Ωστόσο, η φωσφορυλίωση σερίνης/θρεονίνης που επάγεται από την κινάση καζεΐνης II αυξάνει την ισχύ της προσκόλλησης μεταξύ της VE-cadherin και της β-κατενίνης. Η επαγόμενη από τη θρομβίνη ενεργοποίηση της PKC αποτελεί σημαντικό καθοριστικό παράγοντα της αυξημένης απόκρισης ενδοθηλιακής διαπερατότητας, καθώς αναστολή της ενεργοποίησης της μπορεί να αποτρέψει την επαγόμενη από τη θρομβίνη αύξηση της ενδοθηλιακής διαπερατότητας (Konstantoulaki et al., 2003).

Η κυτταροσκελετική αναδιαμόρφωση η οποία μεσολαβείται μέσω αλληλεπιδράσεων της VE-καντερίνης με τον κυτταροσκελετό επιτρέπει στην VE-καντερίνη να ρυθμίζει τις επαφές των ενδοθηλιακών κυττάρων κατά τη διάρκεια της εμβρυογένεσης και να επηρεάζει την αγγειογένεση, το σχηματισμό αυλού και τη μετανάστευση ενδοθηλιακών κυττάρων. Το ενδοθήλιο ελέγχει ενεργά την είσοδο λευκοκυττάρων και ουσιών στους παρακείμενους ιστούς. Ζωτικής σημασίας μηχανισμός για τη διαδικασία αυτή είναι ο έλεγχος των επαφών των ενδοθηλιακών κυττάρων. Επιπλέον, τα ECs έχουν την ικανότητα να αισθάνονται και να ανταποκρίνονται σε μηχανικά ερεθίσματα. Η VE-cadherin συμμετέχει σε ένα πολύπλοκο μηχανισμό ανταπόκρισης των ενδοθηλιακών κυττάρων σε διατμητική τάση που ασκείται στα ενδοθηλιακά κύτταρα λόγω της ροής του αίματος και συνεργάζεται με άλλα μόρια όπως το PECAM και το VEGFR2. Αυτή η ανταπόκριση είναι σημαντική για την ανατομική και λειτουργική ακεραιότητα των αγγείων και για τη ρύθμιση της αγγειακής λειτουργίας γενικότερα (Dejana & Vestweber, 2013).

Όπως αναφέρθηκε, η VE-cadherin αποτελεί καθοριστικό ρυθμιστή της ενδοθηλιακής ακεραιότητας των συνδέσεων αυτών καθώς ελέγχει τη διαπερατότητα σε ουσίες και κύτταρα του αγγειακού τοιχώματος μέσω της ρύθμισης της δραστηριότητάς της ή η παρουσίας της στις κυτταρικές επαφές (Vestweber, 2008). Καθοριστικός είναι ο ρόλος της VE-cadherin τόσο στη ρύθμιση της προσκόλλησης ενδοθηλιακών κυττάρων, όσο και στη λειτουργία του αγγειακού ενδοθηλιακού φραγμού. Η VE-cadherin, εμπλέκεται ακόμα και σε άλλες πτυχές της βιολογίας των ενδοθηλιακών κυττάρων, όπως ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων, η επιβίωση, το σχήμα και την πολικότητα των κυττάρων και την κυτταρική μετανάστευση (Maltabe & Kouklis, 2022).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΔΙΑΛΥΤΗ ΣΤΟΝ ΟΡΟ ΑΓΓΕΙΑΚΗ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΗ ΚΑΝΤΧΕΡΙΝΗ (SOLUBLE VASCULAR ENDOTHELIAL CADHERIN - sVE-cadherin)

1. Διαδικασία απελευθέρωσης στον ορό

Ο όρος “shedding”, αναφέρεται στην αποκόλληση λόγω πρωτεολυτικής διάσπασης των μορίων προσκόλλησης από διάφορες μεταλλοπρωτεάσες. Η διαδικασία αυτή αποτελεί σημαντικό μηχανισμό ρύθμισης τόσο στη στρατολόγηση λευκοκυττάρων στο αγγειακό

τοιχώμα όσο και των διάφορων λειτουργιών των ίδιων το μορίων προσκόλλησης (Ponnuchamy & Khalil, 2008) (Schulz et al., 2008).

Η πρωτεολυτική διάσπαση, shedding, των πρωτεϊνικών μορίων της κυτταρικής επιφάνειας διαμεσολαβείται από πρωτεϊνάσες σερίνης, συμπεριλαμβανομένης της ελαστάσης, της καθεψίνης G και της πρωτεϊνάσης 3, ή από μία υπεροικογένεια μεταλλοπρωτεασών της μετζινσίνης, οι οποίες εξαρτώνται από τον ψευδάργυρο. Περιλαμβάνει την απελευθέρωση κυτοκινών, αυξητικών παραγόντων, χημειοκινών και μορίων προσκόλλησης, τα οποία συντίθενται κυρίως ως διαμεμβρανικά μόρια από ενδοθηλιακά κύτταρα, λευκοκύτταρα, αιμοπετάλια και λεία μυϊκά κύτταρα. Αυτή η υπεροικογένεια ψευδαργυρο - εξαρτώμενων μεταλλοπρωτεασών περιλαμβάνει τις μεταλλοπρωτεϊνάσες μήτρας (MMPs) καθώς και τις ADAMs. Οι ADAMs (a disintegrin and metalloproteinases), είναι γλυκοπρωτεΐνες και ρυθμιστικά ένζυμα αγκυροβολημένα στη μεμβράνη και εμπλέκονται στην κυτταρική προσκόλληση, όπως επίσης και στην πρωτεολυτική μετατροπή ή αποβολή συνδεδεμένων με τη μεμβράνη πρωτεϊνών, σε διαλυτές μορφές. Τουλάχιστον τριάντα μέλη της οικογένειας των ADAMs μοιράζονται μια κοινή δομή η οποία αποτελείται από 7 τομείς: μια προ-περιοχή, μια περιοχή μεταλλοπρωτεάσης, μια περιοχή αποσυγκόλλησης, έναν τομέα πλούσιο σε κυστεΐνη, μια περιοχή που μοιάζει με τον επιδερμικό αυξητικό παράγοντα (EGF), μια διαμεμβρανική και μια κυτταροπλασματική περιοχή. Οι ADAMs διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε ποικίλες βιολογικές διεργασίες συμπεριλαμβανομένων της γονιμοποίησης, της μυογένεσης, της νευρογένεσης, της αγγειογένεσης, στην ενεργοποίηση αυξητικών παραγόντων και ρυθμιστών του ανοσοποιητικού συστήματος, αλλά επίσης και σε ορισμένες καταστάσεις ασθενειών όπως στον καρκίνο. (Ponnuchamy & Khalil, 2008; Flemming et al., 2015; Sidibé et al., 2012; Blaise, Polena, & Vilgrain, 2015; Schulz et al., 2008; Cuffaro et al., 2023)

Οι ADAM-10 και ADAM-17 έχουν μελετηθεί εκτενώς στο πλαίσιο αποκόλλησης εκτοδομών. Είναι πλέον αποδεδειγμένο, ότι αδαμαλυσίνες όπως οι ADAM-10 και ADAM-9 μεσολαβούν στη διάσπαση των VE-cadherins κατά τη διάρκεια της νεοαγγείωσης του αμφιβληστροειδούς και στα ενδοθηλιακά κύτταρα της ανθρώπινης ομφαλικής φλέβας (HUVCEs) ύστερα από διέγερση με θρομβίνη, αντίστοιχα. Η πρωτεολυτική αυτή διάσπαση της VE-cadherin, οδηγεί στον σχηματισμό ενός τμήματος μεγέθους 90 kDa το οποίο αναφέρεται ως διαλυτή VE-cadherin (soluble VE-cadherin – sVE-cadherin) (Sidibé et al., 2012). Οι ADAM-10 διαδραματίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στην αποκόλληση και άλλων μορίων κυτταρικής προσκόλλησης, σημαντικών για τη διατήρηση της αγγειακής ακεραιότητας. Η συμβολή των ADAM-10 είναι εξίσου σημαντική κατά τη στρατολόγηση

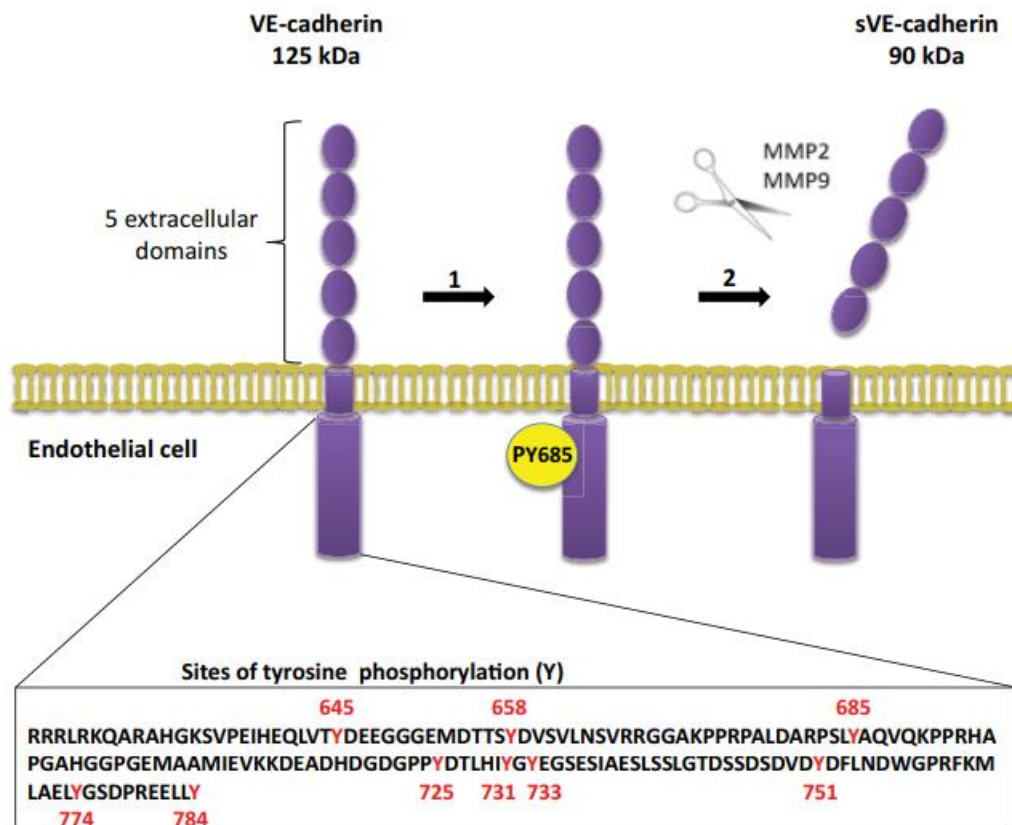
των T-λευκοκυττάρων, καθώς εμπλέκονται στη ρύθμιση της μετανάστευσης μέσω του ελέγχου προσκόλλησης των ενδοθηλιακών κυττάρων. Με αυτά τα ευρήματα θα μπορούσε να εικαστεί ότι τα μεταναστευτικά λευκοκύτταρα προκαλούν ενδοθηλιακή ενδοκυτταρική σηματοδότηση που ενεργοποιεί την εξαρτώμενη από την ADAM-10 διάσπαση της VE-cadherin που οδηγεί σε παροδικό σχηματισμό κενού στο ενδοθηλιακό στρώμα.

Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι τα MMP-2, MMP-7 και MMP-9 εμπλέκονται στην πρόκληση διάσπασης της VE-cadherin σε διάφορα φυσιολογικά συμβάντα και συγκεκριμένα στην απόπτωση, αλλά και στη διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια και τη μόλυνση από τον ιό του δάγκειου πυρετού (Ponnuchamy & Khalil, 2008; Flemming et al., 2015; Blaise et al., 2015; Schulz et al., 2008).

Η ενδοθηλιακή διαπερατότητα μπορεί να επαχθεί από διάφορες αγγειοδραστικές ουσίες, από ιονοφόρα Ca^{2+} όπως η ιονομυκίνη, αυξητικούς παράγοντες, εστέρες φορβόλης αλλά και από τη θρομβίνη, έναν φλεγμονώδη μεσολαβητή ο οποίος διεγείρει τις οδούς σηματοδότησης του κυτταροσκελετικού συστήματος με αποτέλεσμα την αύξηση του ενδοκυτταρικού Ca^{2+} . Όταν τα κύτταρα βρίσκονται σε κατάσταση ηρεμίας, η καλμοδουλίνη (CaM), σχετίζεται ως προς τη σύστασή της με την ανενεργή μορφή pro-ADAM-10. Ένα υποκείμενο ερέθισμα, όπως η παρουσία θρομβίνης, ή η προσκόλληση λευκοκυττάρων, αυξάνει την ενδοκυτταρική συγκέντρωση Ca^{2+} ενεργοποιώντας το ενδοθηλιακό κύτταρο και προάγεται με αυτόν τον τρόπο η διάσπαση της CaM, η ενεργοποίηση του ADAM-10 και η επακόλουθη πρωτεόλυση της VE-cadherin στην κυτταρική επιφάνεια. Αρκετοί μηχανισμοί σηματοδότησης εμπλέκονται στην επαγόμενη από θρομβίνη υπερδιαπερατότητα, όπως η οδός σηματοδότησης RhoA/Rho κινάσης ή η οδός πρωτεϊνικής κινάσης τυροσίνης, γεγονός που υποδεικνύει ότι η ενεργοποίηση του ADAM-10 είναι μέρος πολλών γεγονότων σχετιζόμενων με τη θρομβίνη. (Ponnuchamy & Khalil, 2008; Schulz et al., 2008)

Συγκεκριμένα, η επαγόμενη από την ADAM-10 διάσπαση της VE-cadherin μεσολαβείται από την ενεργοποίηση της θρομβίνης των ενδοθηλιακών κυττάρων, την εισροή ιόντων Ca^{2+} , καθώς και την επαγωγή απόπτωσης με θεραπεία με σταυροσπορίνη. Η αύξηση στη συγκέντρωση του ενδοκυτταρικού ασβεστίου η οποία επάγεται επίσης από την προσκόλληση των λευκοκυττάρων, αποτελεί μια διαδικασία που όπως προαναφέρθηκε οδηγεί όχι μόνο στην ενεργοποίηση της ADAM-10, την αποβολή του εκτοτομέα της VE-cadherin, επακόλουθη διάσπαση των δια-κυτταρικών συνδέσεων, αλλά διευκολύνει επίσης, την αποικοδόμηση της κυτταροπλασματικής περιοχής της VE-cadherin από τη γ-σεκρετάση. Αποτέλεσμα αυτής της διαδικασίας είναι η μετατόπιση της β-κατενίνης από την

πλασματική μεμβράνη στο κυτταρόπλασμα όπου μπορεί να αλλάξει τη μορφολογία, την κινητικότητα και τη διαδικασία του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Η επαγόμενη από την ADAM πρωτεόλυση μπορεί να αλλάξει τη δραστηριότητα των εναπομεινάντων επιφανειακών μοριακών συμπλεγμάτων που με τη σειρά τους επηρεάζουν τις οδούς σηματοδότησης μέσα στο κύτταρο. Επιπλέον, τα πρωτεολυτικά θραύσματα που δημιουργούνται κατά την ενεργοποίηση του ADAM-10 ύστερα από ενδοκυτταρική αύξηση των ιόντων Ca^{2+} , μπορούν να επηρεάσουν την δραστηριότητα των διαύλων ασβεστίου αλλά και άλλων διαύλων της ενδοθηλιακής μεμβράνης. Στη διαδικασία του shedding, σημαντικός θεωρείται και ο ρόλος της της Rho κινάσης και της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKC), μιας και η ενεργοποίηση της PKC-α μπορεί να αυξήσει τη διαπερατότητα των ενδοθηλιακών κυττάρων με την αποσυναρμολόγηση των συνδέσμων VE-cadherin. Τέλος, έχει αποδειχθεί, ότι η διάσπαση της VE-cadherin εξαρτάται από την ενεργοποίηση της κινάσης τυροσίνης ως απόκριση στην πρόκληση των κυτοκινών και πιο συγκεκριμένα από την κινάση Src ως απόκριση στον VEGF. Η φωσφορυλίωση τυροσίνης των συστατικών των συμπλοκών καντχερίνης-κατενίνης - β-κατενίνη, πλακοσφαιρίνη, VE-cadherin και άλλες καντερίνες (E- και N-καντερίνες) - συσχετίζεται καλά με τη διάσπαση των στρωμάτων των ενδοθηλιακών κυττάρων. Η κυτταροπλασματική περιοχή της VE-cadherin φέρει εννέα υποτιθέμενες θέσεις φωσφορυλίωσης τυροσίνης, συμπεριλαμβανομένων των Y658, Y685 και Y731, οι οποίες έχουν εμπλακεί μεμονωμένα στον έλεγχο της ακεραιότητας του φραγμού (Ponnuchamy & Khalil, 2008; Rochefort et al., 2017; Blaise et al., 2015; Schulz et al., 2008).



Εικόνα 7. Σχηματική απεικόνιση των δομικών τροποποιήσεων της VE-cadherin που οδηγούν στη διάσπαση του εκτοτομέα της. Η VE-cadherin μπορεί να υποβληθεί σε φωσφορυλίωση στη θέση Y685. Αυτή η φωσφορυλίωση προηγείται της διάσπασης VEC της εξοκυτταρικής περιοχής (Blaise et al., 2015)

Σε μια έρευνα που διεξήγαγαν ο De Wever και συνεργάτες τους το 2007, προτάθηκαν δύο μηχανισμοί δράσης των διαλυτών στον ορό πρωτεϊνών. Ένας από αυτούς τους μηχανισμούς αποτελεί το γεγονός ότι οι διαλυτές στον ορό καντχερίνες κινούνται στον εξωκυτταρικό χώρο και παράλληλα ρυθμίζουν αυτοκρινώς ή παρακρινώς άλλες κυτταρικές συνδέσεις διαμεσολαβούμενες από καντχερίνες. Κατά τον δεύτερο τρόπο δράσης, οι διαλυτές στον ορό καντχερίνες παγιδεύονται στην εξωκυττάρια μήτρα (Extracellular Matrix – ECM) παρέχοντας μια θέση πρόσδεσης για μόρια καντχερίνης που υπάρχουν στα μεταναστευτικά κύτταρα.

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι σε διαταραχές που σχετίζονται με αγγειακή δυσλειτουργία ή ακόμα και σε ασθενείς με σήψη, τα επίπεδα της sVE-cadherin στον ορό ή το πλάσμα εμφανίζονται αρκετά αυξημένα (Yu et al., 2019).

Η σημασία της μελέτης της διαλυτής στον ορό μορφής της VE-cadherin (soluble VE-cadherin – sVE-cadherin) είναι μεγάλη. Αρκετές έρευνες έχουν διαπιστώσει τη συμβολή της sVE-cadherin τόσο ως δείκτη ενδοθηλιακής διαπερατότητας και φλεγμονής όσο και στην άμεση συμβολή της στην παθοφυσιολογική διαδικασία (Li, Lin, & Li, 2021).

Ενώ η διαλυτή VE-cadherin είναι η πιο καλά μελετημένη διαλυτή καντχερίνη λόγω της σημασίας της στην ενδοθηλιακή λειτουργία και την αγγειακή βιολογία, υπάρχουν και άλλοι τύποι διαλυτών καντχερινών που έχουν αναγνωρισθεί, πιο σημαντικές εκ των οποίων είναι οι soluble E-cadherin και η soluble P-cadherin.

Η επιθηλιακή (E-) καντχερίνη είναι ένα ομοφιλικό μόριο προσκόλλησης υπεύθυνο για τη διατήρηση της βασοπλευρικής κυτταρικής προσκόλλησης και πολικότητας. Πρωτεολυτική διάσπαση της E- καντχερίνης η οποία επάγεται από ερεθίσματα όπως από την παρουσία προφλεγμονώδων κυτοκινών και αυξητικών παραγόντων, οδηγεί στον σχηματισμό τμήματος 80 kDa που αναφέρεται σε μια διαλυτή E-καντχερίνη (sE-cad). Οι πρωτεάσες που συμμετέχουν στην πρωτεολυτική διάσπαση περιλαμβάνουν μέλη της οικογένειας των ADAMs (ADAM-10,-15), μεταλλοπρωτεάσες μήτρας (MMP-2, 3, 7, 9,14), βακτηριακές πρωτεάσες, καθεψίνες, την καλλιικρεΐνη-7 και την πλασμίνη. Η sE-cad σήμερα έχει αναφερθεί σε ασθενείς με ιογενείς και βακτηριακές λοιμώξεις, ανεπάρκεια οργάνων, σε καλοήγη νόσο αλλά και σε ασθενείς με καρκίνο και ειδικότερα καρκίνο του μαστού. Οι επιπτώσεις της συσσώρευσης του sE-cad στα κύτταρα ή στη φυσιολογία περιλαμβάνουν τη διακοπή των συνδέσεων προσκόλλησης, την κυτταρική μετανάστευση και εισβολή, την ενεργοποίηση των MMPs, καθώς και τη σήμανση των κυττάρων. Αυτό υποδηλώνει ότι το sE-cad μπορεί να συμβάλει στην εξέλιξη της νόσου (Grabowska & Day, 2014).

3.2. Σχέση με διάφορες ασθένειες

Πολλές κλινικές μελέτες έχουν συσχετίσει αυξημένα επίπεδα sVE-cadherin με διάφορες παθολογικές καταστάσεις μεταξύ των οποίων οξεία νεφρική βλάβη, συστηματική αγγειίτιδα, χρόνια αυθόρμητη κνίδωση και συστηματική σήψη.

Οι διαλυτές στον ορό καντχερίνες είναι δυνατόν να επηρεάζουν την λειτουργία των ώριμων, πλήρους μήκους καντχερινών των ενδοθηλιακών κυττάρων, καθώς η sVE-cadherin μπορεί να συνδεθεί με τα ECs μέσω των VE-cadherins, να αυξήσει τη διαπερατότητα ή να ρυθμίσει την κυτταρική προσκόλληση και την αγγειογένεση (Harki et al., 2021). Σύμφωνα με τον Zhang και τους συνεργάτες του (2010), ενδέχεται πως τα αυξημένα επίπεδα της εκτοδομής της VE-cadherin που αποβάλλονται μέσω shedding στον ορό να συμβάλλουν στη ρύθμιση της λειτουργίας των καντχερινών στα ECs υπό παθολογικές συνθήκες. Σε μια πρόσφατη μελέτη (Knop, Burkard, Flemming, & Schlegel, 2022), βρέθηκε ότι η sVE-cadherin στοχεύει το σύμπλοκο της VE-cadherin με τη VE-PTP (αγγειακή ενδοθηλιακή φωσφατάση τυροσίνης) και μπορεί να οδηγήσει σε σχηματισμό ινών τάσεως, στη δημιουργία δια-

κυτταρικού κενού και δυσλειτουργία του αγγειακού φραγμού. Οι παρατηρήσεις αυτές επιβεβαιώθηκαν *in vivo* σε ένα μοντέλο αρουραίου, όπου η ενδοφλέβια χορήγηση sVE-cadherin αύξησε τη μικροαγγειακή διαπερατότητα και διατάραξε τη μικροκυκλοφορική ροή. Έτσι λοιπόν, φαίνεται ότι η sVE-cadherin διαδραματίζει έναν παθογενετικό ρόλο στη ρύθμιση της αγγειακής διαπερατότητας. Μια μελέτη των Chen et al. (2014), παρουσίασε τις πρώτες παρατηρήσεις σχετικά με τις μεταβολές των επιπέδων της sVE-cadherin στον ορό ασθενών με πορφύρα Henoch-Schönlein (HSP) και άλλες μορφές συστηματικής αγγειίτιδας (SV), όπως η κνιδωτική αγγειίτιδα (UV) και η αλλεργική αγγειίτιδα (AV). Οι ερευνητές αυτοί υποστήριζαν ότι η πρωτεόλυση της πρωτεΐνης VE-cadherin μπορεί να αποτελεί σημαντικό φυσιοπαθολογικό χαρακτηριστικό και να συνδέεται με την παθογένεια της HSP και άλλων μορφών SV. Περιορισμός της έρευνας αυτής ωστόσο αποτέλεσε το μικρό μέγεθος του δείγματος. Οι Harki et al. (2021), γνώριζαν το γεγονός ότι η φιμπρίνη μπορεί να συνδεθεί με την εξωκυτταρική περιοχή της VE-cadherin, προωθώντας έτσι το σχηματισμό δομών που μοιάζουν με τριχοειδή. Αφού παρατήρησαν ότι το ινωδογόνο είναι αυξημένο σε ασθενείς με αποφρακτική άπνοια ύπνου (OSA), πρότειναν πως η κυκλοφορούσα sVE-cadherin θα μπορούσε να λειτουργήσει ως ανταγωνιστής της αλληλεπίδρασης της ινωδογόνου με την VE-cadherin πλήρους μήκους και έτσι να τροποποιήσει τη δυναμική των ενδοθηλιακών κυττάρων.

Η συμβολή της sVE-cadherin στην παθογένεια ασθενειών έχει προταθεί και στην περίπτωση του συνδρόμου υπερδιέγερσης των ωθηκών (OHSS). Συγκεκριμένα, η χοριακή γοναδοτροπίνη (HCG) αυξάνει τις συγκεντρώσεις του VEGF στον ορό και ο VEGF ρυθμίζει τη δια-ενδοθηλιακή διαπερατότητα μέσω των ενδοθηλιακών συνδέσεων προσκόλλησης, ενός μεταγενέστερου στόχου για τη σηματοδότηση του VEGF. Σε μια έρευνα που διεξήχθη μεταξύ γυναικών με σοβαρό OHSS και γυναικών που είχαν υποβληθεί σε ελεγχόμενη υπερδιέγερση των ωθηκών για εξωσωματική γονιμοποίηση χωρίς ανάπτυξη του συνδρόμου, διαπιστώθηκε ότι οι γυναίκες με σοβαρό OHSS είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα sVE-cadherin από τις ασθενείς χωρίς OHSS, καθώς επίσης υποστηρίχθηκε και μια θετική συσχέτιση μεταξύ της sVE-cadherin και των επιπέδων οιστραδιόλης στον ορό κατά τη στιγμή της χορήγησης της HCG. Με αυτό τον τρόπο προτάθηκε η συμβολή της sVE-cadherin στην παθογένεια του σοβαρού OHSS (Villasante et al. 2008; Sidibé et al., 2014).

Η VE-cadherin αποτελεί έναν δυναμικά πληροφοριακό δείκτη της πυκνότητας των αιμοφόρων αγγείων στους καρκινικούς ιστούς, όπως έχει αποδειχθεί από διάφορες ανοσοϊστοχημικές μελέτες και μελέτες ποσοτικής PCR πραγματικού χρόνου. Αυξημένη συγκέντρωση της στον ορό μπορεί να αντανακλά υψηλό βαθμό αγγειογένεσης στον όγκο ή

παραγωγή καντχερίνης από τον ίδιο τον όγκο. Ομοίως, αυξημένες συγκεντρώσεις της sVE-cadherin έχουν εντοπιστεί στον ορό μη θεραπευμένων ασθενών με καρκίνο του παχέως εντέρου (Sulkowska et al., 2006). Έχει βρεθεί επιπλέον, ότι η sVE-cadherin μπορεί να προκαλέσει απόπτωση και αναστολή της ανάπτυξης σε μια κυτταρική σειρά καρκίνου του μαστού, υποδεικνύοντας με αυτόν τον τρόπο ότι η αυξημένη παρουσία της στον ορό ασθενών με αυτό το είδος κακοήθειας, μπορεί να έχει προστατευτική δράση (Shi et al., 2006). Σε μια έρευνα τους ο Habibagahi et al. (2009), υποστήριξαν ότι η παρουσία υψηλής συγκέντρωσης sVE-cadherin στον ορό μπορεί να διακρίνει άνδρες υψηλού κινδύνου για καρκίνο του προστάτη (PC) ή καλοήγη υπερπλασία του προστάτη (BPH) σε σχέση με άτομα που δεν βρίσκονται σε κίνδυνο εμφάνισης της νόσου, ωστόσο χωρίς να μπορεί να διακρίνει ακριβώς την καλοήγη από την κακοήγη ασθένεια. Μέσα από αυτήν την έρευνα αναδύεται ο πιθανός διαγνωστικός ρόλος αυτού του μορίου σε ασθενείς με καρκίνο του προστάτη, ωστόσο η διαλεύκανση του ρόλου και της κλινικής σημασίας του απαιτεί μεγαλύτερες και αναλυτικότερες έρευνες σε μεγαλύτερο φάσμα συναφών νόσων.

Η παθοφυσιολογική δράση της sVE-cadherin υποστηρίζεται και από μια μελέτη αντίστροφης μετάφρασης κατά την οποία εντοπίστηκε ένα νέο μονοπάτι στο οποίο εμπλέκεται το μόριο αυτό. Η μελέτη αυτή αφορούσε μια βιολογική διαδικασία κατά την οποία τα επίπεδα sVE-cadherin είναι αυξημένα στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY - CSF) ασθενών με υπαραχνοειδή αιμορραγία (SAH) και σχετίζονται με την κλινική έκβαση μετά από SAH. Η έρευνα αυτή έδειξε ότι η sVE-cadherin απελευθερώνεται από το ενδοθήλιο μετά από SAH και μετατοπίζει τη μικρογλοία προς έναν πιο προφλεγμονώδη φαινότυπο, συμβάλλοντας έτσι στη νευροφλεγμονή. Συνολικά, αυτά τα κλινικά και πειραματικά ευρήματα υποδηλώνουν ότι η εμφάνιση της sVE-cadherin μπορεί να συμβάλλει στην παθοφυσιολογία της υποαραχνοειδούς αιμορραγίας (SAH) κατά την πρώιμη φάση της εγκεφαλικής βλάβης, όταν η νευροφλεγμονή αποτελεί κύρια διαδικασία. Στην έρευνα αυτή, δεν εντοπίστηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων που μελετήθηκαν στα επίπεδα sVE-cadherin στο αίμα. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται σε διάφορους παράγοντες περιορισμένης ισχύος. Μεταξύ των περιοριστικών παραγόντων περιλαμβάνεται η παρουσία και άλλων συστηματικών παθήσεων στα άτομα με SAH, μια κατάσταση η οποία μπορεί και να μπερδεύει τα επίπεδα sVE-cadherin στο αίμα καθώς τα υψηλότερα επίπεδα sVE-cadherin στο αίμα έχουν συσχετιστεί με συστηματική φλεγμονή, όπως επίσης και το γεγονός ότι τα βασικά επίπεδα sVE-cadherin στο αίμα είναι 10 φορές υψηλότερα από ότι στο ENY (Takase et al., 2020).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ sVE-cadherin ΩΣ ΒΙΟΔΕΙΚΤΗ ΑΓΓΕΙΑΚΗΣ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ

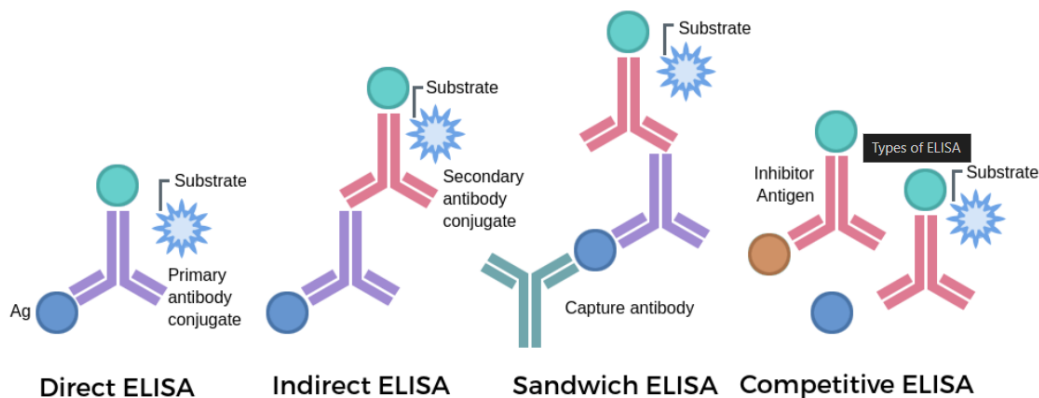
4.1. Μεθοδολογίες που χρησιμοποιούνται στην έρευνα

Οι πρωτεΐνες μπορούν να θεωρηθούν ως ένας τύπος βιοδεικτών. Έτσι λοιπόν, η προσέγγιση της πρωτεομικής αποτελεί μια από τις πλέον υποσχόμενες προσεγγίσεις στον τομέα αυτό. Η πρωτεομική αποτελεί ένα ερευνητικό πεδίο που μελετά τις διάφορες λειτουργίες των πρωτεϊνών, τις δομές τους, τους ρόλους που κρύβονται πίσω από την εμφάνιση συγκεκριμένων πρωτεϊνών, καθώς και τον κύριο ρόλο κάθε πρωτεΐνης. Οι τεχνικές και οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται στην πρωτεομική προσέγγιση χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό των δραστηριοτήτων και της παρουσίας πρωτεϊνών ως βιοδεικτών για διάφορους τύπους ασθενειών από διάφορους τύπους δειγμάτων. Τα τρία βασικά στάδια της προσέγγισης αυτής περιλαμβάνουν την εξαγωγή και τον διαχωρισμό των πρωτεϊνών, την ταυτοποίησή τους αλλά και την επαλήθευση των πρωτεϊνών. Τελικό στάδιο αποτελούν οι κλινικές δοκιμές για νέους βιοδείκτες που ανακαλύφθηκαν ή για βιοδείκτες που δεν έχουν καθοριστεί (Alharbi, 2020). Η εξακρίβωση της sVE-cadherin ως βιοδείκτη περιλαμβάνει ειδικές εργαστηριακές τεχνικές οι οποίες στοχεύουν στην ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό των επιπέδων της σε βιολογικά δείγματα και ειδικότερα στον ορό του αίματος και το πλάσμα. Ορισμένες από αυτές τις τεχνικές, οι οποίες κιόλας έχουν χρησιμοποιηθεί στις έρευνες οι οποίες παρατίθενται παρακάτω είναι:

- Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

Η ELISA είναι μια ανοσολογική δοκιμασία η οποία χρησιμοποιείται ευρέως στην βασική έρευνα, σε κλινικές μελέτες και στη διαγνωστική. Πρόκειται για μια ισχυρή τεχνική που χρησιμοποιείται στις έρευνες πρωτεομικής για την επαλήθευση βιοδεικτών. Η ELISA είναι ταχεία, ευαίσθητη και είναι πολύ ακριβής τεχνική. Βασίζεται στην ανίχνευση του αντιγόνου (πρωτεΐνης - στόχου) και του πρωτογενούς αντισώματος έναντι του συγκεκριμένου αντιγόνου. Η παρουσία του τελευταίου επιβεβαιώνεται μέσω της κατάλυσης του συνδεδεμένου με ένζυμο αντισώματος του εισαγόμενου υποστρώματος και τα προϊόντα της αντίδρασης αυτής ανιχνεύονται είτε ποιοτικά είτε ποσοτικά με διάφορες μεθόδους όπως, οπτική παρατήρηση, ή χρήση φωτόμετρου ή φασματοφωτόμετρου. Υπάρχουν διάφοροι τύποι ELISA και ταξινομούνται σε Direct (άμεση), Indirect (έμμεση), Sandwich και

Competitive (ανταγωνιστική). Οι τεχνικές αυτές διαφοροποιούνται μεταξύ τους ως προς τα αντιγόνα, τα αντισώματα, τα υποστρώματα και τις πειραματικές συνθήκες. Αναλυτικότερα, κατά την άμεση ELISA πραγματοποιείται δέσμευση των συνδεδεμένων με ένζυμο πρωτογενών αντισωμάτων στις πλάκες που είναι επικαλυμμένες με αντιγόνο, ενώ κατά την έμμεση ELISA εισάγονται και δευτερογενή αντισώματα συνδεδεμένα με ένζυμο, τα οποία είναι ειδικά για τα πρωτογενή αντισώματα που δεσμεύονται στις πλάκες που είναι επικαλυμμένες με αντιγόνο. Όσον αφορά την Sandwich - ELISA, η τεχνική αυτή περιλαμβάνει την τοποθέτηση του αντιγόνου του δείγματος που σε μια επικαλυμμένη με αντίσωμα πλάκα, και ακολουθείται από μια διαδοχική πρόσδεση των αντισωμάτων αντίστροφης και των συνδεδεμένων με ένζυμο δευτερογενών αντισωμάτων στις θέσεις αναγνώρισης του αντιγόνου. Τέλος, η ανταγωνιστική ELISA περιλαμβάνει ανταγωνισμό μεταξύ του αντιγόνου του δείγματος και ενός επικαλυμμένου στην πλάκα αντιγόνου για το πρωτογενές αντίσωμα και στη συνέχεια ακολουθείται δέσμευση των συνδεδεμένων με ένζυμο δευτερογενών αντισωμάτων (Hayrapetyan et al., 2023; Alharbi, 2020).

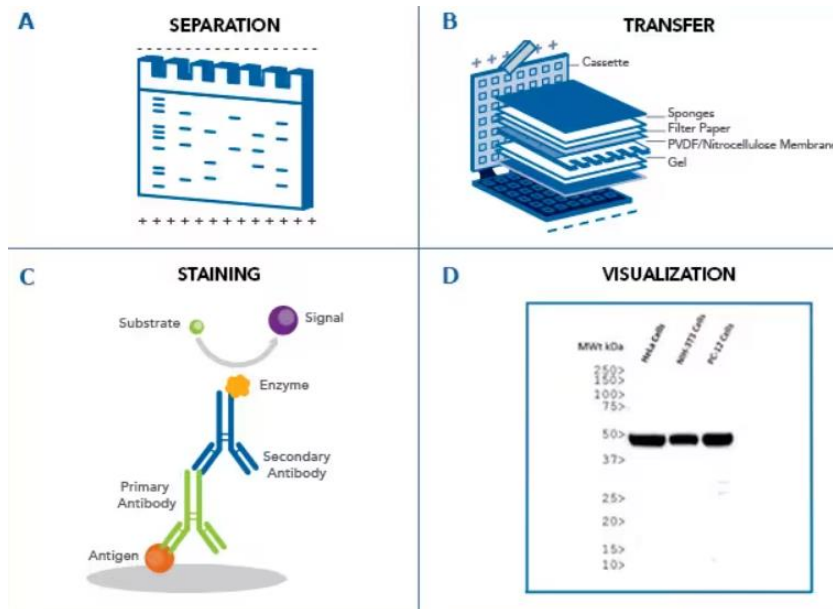


Εικόνα 8. Οι 4 τύποι της δοκιμασίας ELISA (<https://theory.labster.com/types-elisa/>)

- Western blot

Άλλη μια σχεδόν εξίσου καλή με την ELISA εργαστηριακή τεχνική η οποία χρησιμοποιείται για την ταυτοποίηση βιοδεικτών είναι και η Ανοσοαποτύπωση κατά Western (Western Blot). Πρόκειται για μια τεχνική η οποία βασίζεται σε πολυκλωνικά ή μονοκλωνικά αντισώματα και χρησιμοποιείται για την ανίχνευση της παρουσίας, του μεγέθους και της αφθονίας συγκεκριμένων πρωτεϊνών σε ένα σύνθετο μείγμα. Η διαδικασία περιλαμβάνει τον διαχωρισμό των πρωτεϊνών με βάση το μοριακό τους βάρος, την ακόλουθη μεταφορά τους σε ένα σταθερό φορέα και την μετέπειτα ανίχνευσή τους με τη χρήση ειδικών ανιχνευτών - αντισωμάτων. Στο τέλος των σταδίων αυτών έχουν δημιουργηθεί ορατές δέσμες, κάθε μία από τις οποίες αντιπροσωπεύει μια συγκεκριμένη πρωτεΐνη. Όσο πιο

σκούρα και έντονη είναι μια δέσμη τόσο πιο άφθονη είναι η συγκεκριμένη πρωτεΐνη. Η ικανότητα της τεχνικής αυτής να ταυτοποιεί πρωτεΐνες - στόχους ημι-ποσοτικά και με υψηλή ειδικότητα, την έχει καταστήσει πολύτιμο διαγνωστικό εργαλείο κλινικής σημασίας (NeoBiotechnologies, n.d.; Alharbi, 2020).



Εικόνα 9. Τα 4 βήματα της τεχνικής Western Blot (<https://www.novusbio.com/application/western-blotting>)

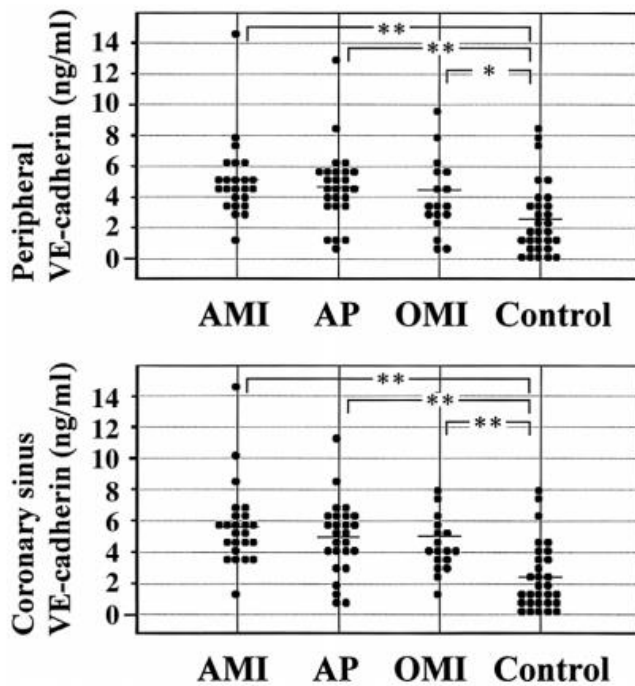
4.2 Μελέτες που προτείνουν την sVE-cadherin ως πιθανό δείκτη αγγειακής δυσλειτουργίας

4.2.1. Υψηλή συγκέντρωση της sVE-cadherin σχετίζεται με στεφανιαία αθηροσκλήρωση

Η αθηροσκλήρωση αποτελεί μια χρόνια φλεγμονώδη νόσο των αρτηριών που αποτελεί την κύρια αιτία περίπου του 50% των θανάτων στη δυτική κοινωνία. Πρόκειται για μια ασθένεια στενά συνδεδεμένη με την αγγειακή δυσλειτουργία και συχνά αποτελεί μια από τις κύριες αιτίες της. Η αθηροσκλήρωση εξελίσσεται κυρίως μέσω μιας συνεχούς διαδικασίας αλλοιώσεων του αρτηριακού τοιχώματος, όπου τα λιπίδια κατακρατούνται και παγιδεύονται στον εσωτερικό χιτώνα του αγγείου από μια μήτρα, όπως οι πρωτεογλυκάνες. Αυτή η διαδικασία οδηγεί σε τροποποιήσεις του αγγειακού τοιχώματος που επιδεινώνουν τη χρόνια φλεγμονή στα ευάλωτα σημεία των αρτηριών και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο σε όλες τις φάσεις της αθηρογενετικής εξέλιξης (Pahwa & Jialal, 2023).

Η πρώτη κλινική μελέτη που αξιολόγησε τα επίπεδα της sVE-cadherin και αφορούσε ασθενείς με στεφανιαία αθηροσκλήρωση δημοσιεύθηκε το 2004 από τους Soeki και τους συνεργάτες του. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι οι αυξημένες συγκεντρώσεις ορισμένων διαλυτών μορίων προσκόλλησης σχετίζονται με μελλοντικά καρδιαγγειακά συμβάντα, τόσο σε φαινομενικά υγιή άτομα όσο και σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο. Έχει αποδειχθεί ότι η VE-cadherin εκφράζεται στις αθηρωματικές αλλοιώσεις από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και σχετίζεται με τη νεοαγγείωση. Παρόλα αυτά, μέχρι τότε δεν είχε εξεταστεί η σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης της κυκλοφορούσας VE-cadherin και της στεφανιαίας νόσου.

Στόχος της μελέτης αυτής ήταν να προσδιοριστεί κατά πόσον η συγκέντρωση της διαλυτής VE-cadherin στο πλάσμα σχετίζεται με τη στεφανιαία αθηροσκλήρωση. Για την επίτευξη αυτού του στόχου μελετήθηκαν τρεις κατηγορίες ασθενών. Μία ομάδα περιλάμβανε ασθενείς με με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου (Acute Myocardial Infarction AMI, n=24), μια ομάδα αποτελούνταν από ασθενείς με στηθάγχη (Angina Pectoris AP, n=26) και μια ομάδα από άτομα με παλαιότερο έμφραγμα του μυοκαρδίου (Old Myocardial Infarction – OMI, n=18). Τα αποτελέσματα των τριών αυτών ομάδων, συγκρίθηκαν με μια ομάδα ελέγχου, η οποία αποτελούνταν από άτομα με θωρακικό άλγος, που δεν παρουσίαζαν ωστόσο σημάδια στένωσης της στεφανιαίας αρτηρίας στην αγγειογραφία (n=30). Στη μελέτη συμπεριελήφθησαν, για κάθε ομάδα μελέτης, διάφοροι παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με την αθηροσκλήρωση όπως το φύλο, η ηλικία, το ιστορικό καπνίσματος, η υπέρταση, ο σακχαρώδης διαβήτης, τα επίπεδα HDL-χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων, οι οποίοι όμως ήταν παρόμοιοι για όλες τις ομάδες, χωρίς να διαπιστωθεί σημαντική στατιστική διαφορά μεταξύ τους. Η συγκέντρωση της sVE-cadherin στο πλάσμα μετρήθηκε με ELISA. Οι συγκεντρώσεις του μορίου αυτού στο πλάσμα (ng/ml) τόσο στο περιφερικό αίμα όσο και στο αίμα του φλεβοκόμβου ήταν υψηλότερες και στις τρεις κατηγορίες ασθενών σε σχέση με την ομάδα ελέγχου και ήταν παρόμοιες στις 3 ομάδες με στεφανιαία νόσο (μηνιαία αρτηρία: AMI $5,1 \pm 2,5$, AP $4,7 \pm 2,4$, OMI $4,5 \pm 3,3$, ομάδα ελέγχου $2,6 \pm 2,3$, φλεβοκόμβος: AMI $5,6 \pm 2,6$, AP $5,0 \pm 2,3$, OMI $5,0 \pm 2,9$, ομάδα ελέγχου $2,4 \pm 2,1$, αντίστοιχα). Όλα τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως μέση \pm τυπική απόκλιση (Standard Deviation – SD). Στη συνέχεια ακολούθησε στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων. Τα αποτελέσματα αυτά παρουσιάζονται στο παρακάτω διάγραμμα.



Διάγραμμα 1. Συγκεντρώσεις της VE-cadherin στο πλάσμα δειγμάτων από περιφερικό αίμα και αίμα του φλεβοκόμβου στις ομάδες ασθενών με AMI, AP και OMI, καθώς και στην ομάδα ελέγχου (control). Οι τιμές είναι μέσες \pm SD. ** $p < 0,01$ vs control, * $p < 0,05$ vs control (Soeki et al., 2004)

Έτσι λοιπόν οι ερευνητές αυτοί κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η υψηλή συγκέντρωση της sVE-cadherin σχετίζεται με τη στεφανιαία αθηροσκλήρωση και επιπλέον, η sVE-cadherin αποτελεί χρήσιμο δείκτη αυτής της νόσου, αλλά όχι αποτέλεσμα της δραστηριότητάς της. Περιορισμοί στην συγκεκριμένη έρευνα αποτέλεσαν ο μικρός αριθμός δείγματος, οι λίγες χρονικές φάσεις των πειραμάτων και το γεγονός ότι δεν συμπεριλήφθηκαν στην έρευνα οι συγκεντρώσεις άλλων μορίων προσκόλλησης, οπότε δεν μπόρεσαν να διευκρινιστούν οι σχέσεις μεταξύ ομοιοτυπικών και ετεροτυπικών μορίων προσκόλλησης σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο. Ένας ακόμη περιορισμός ήταν ότι δεν αξιολογήθηκε η σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης της διαλυτής VE-cadherin και της «συστηματικής» αθηροσκλήρωσης. Έτσι λοιπόν, παρά το ενδιαφέρον αυτό αποτέλεσμα της συγκεκριμένης έρευνας, ήταν απαραίτητο να διεξαχθούν περαιτέρω μελέτες για την επιβεβαίωση αυτών των πρώτων παρατηρήσεων (Soeki et al., 2004).

4.2.2. Η sVE-cadherin αποτελεί έναν νέο δείκτη παρακολούθησης της δραστηριότητας της Ρευματοειδούς Αρθρίτιδας (Rheumatoid Arthritis - RA)

Η ρευματοειδής αρθρίτιδα (RA) αποτελεί την πιο διαδεδομένη φλεγμονώδη νόσο των αρθρώσεων και χαρακτηρίζεται από επίμονη αρθρική φλεγμονή, που οδηγεί τελικά σε

καταστροφή των χόνδρων και των οστών. Η RA συνδέεται με παραδοσιακούς και μη παραδοσιακούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου, όπως η ηλικία και η υπέρταση, αλλά και άλλους παράγοντες που σχετίζονται με τη φλεγμονή συμπεριλαμβανομένου του αριθμού των ουδετερόφιλων, του ακτινογραφικού σκορ και των επιπέδων ουρικού οξέος. Η φλεγμονή συμβάλλει στην αύξηση της καρδιαγγειακής νόσου στους ασθενείς με RA και οδηγεί σε ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Στη μελέτη αυτή αντιμετωπίστηκε για πρώτη φορά το ζήτημα της κλινικής σημασίας της sVE-cadherin σε ασθενείς με RA. Οι επιστήμονες εξέτασαν το κατά πόσον η πιο στοχευμένη κυτταροκίνη της νόσου, ο TNF (Tumor Necrotic Factor), θα μπορούσε να επηρεάσει τις συγκολλητικές ιδιότητες της VE-cadherin και να επάγει διάσπαση της και κατά πόσον οι κινάσες τυροσίνης και οι μεταλλοπρωτεϊνάσες εμπλέκονται σε αυτή τη διαδικασία.

Για τον σκοπό της έρευνας αρχικά καλλιεργήθηκαν ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα ομφαλικής φλέβας και υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με ανασυνδυασμένο TNF για να μελετηθεί η διάσπαση της VE-cadherin. Ύστερα από μια σειρά βημάτων επεξεργασίας των κυττάρων τα προϊόντα τους αναλύθηκαν με Western blotting και ακολούθησε στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων. Η VE-90 αναλύθηκε κατά την έναρξη και κατά την παρακολούθηση 1 έτους σε ορούς από 63 ασθενείς με RA με διάρκεια νόσου <6 μηνών. Η μελέτη αυτή, κατέδειξε την παρουσία sVE-cadherin και στους 63 ασθενείς με RA και διερεύνησε την πιθανή κλινική σημασία της στη νόσο. Η παρατήρηση αυτή ήταν σύμφωνη με τα αποτελέσματα των *in vitro* πειραμάτων των ερευνητών. Τα προκαταρκτικά δεδομένα της έρευνας ανέδειξαν μια συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων sVE-cadherin σε ορούς από ασθενείς με πρώιμη RA και των Βαθμών Δραστηριότητας της νόσου τους (DAS), ενός από τα σημαντικότερα εργαλεία αξιολόγησης της δραστηριότητας της RA και της ανταπόκρισης κάθε ασθενούς στη θεραπεία. Η σχέση αυτή είναι ανεξάρτητη από τα επίπεδα της CRP (C-Reactive Protein). Σύμφωνα με τους ερευνητές αυτούς, το γεγονός αυτό δείχνει ότι η sVE-cadherin θα μπορούσε να αποτελέσει έναν νέο δείκτη παρακολούθησης της δραστηριότητας της νόσου, ιδίως στην υποομάδα των ασθενών με RA χωρίς αύξηση των επιπέδων της CRP. Οι συγγραφείς της μελέτης υποστήριξαν ότι περαιτέρω κλινικές δοκιμές με τη χρήση μιας μεθόδου όπως η ενζυμική ανοσοπροσοροφητική δοκιμασία, είναι απαραίτητες για τον ποσοτικό προσδιορισμό της sVE-cadherin στον ορό των ασθενών αυτών, όπως επίσης και για τη διερεύνηση του εάν η sVE-cadherin είναι χρήσιμη για την πρόγνωση και/ή της ανταπόκριση σε φάρμακα ειδικά για τις νέες θεραπείες στη RA, συμπεριλαμβανομένων των αναστολέων του TNF (Sidibé et al., 2012).

4.2.3. Αυξημένα επίπεδα της sVE-cadherin στον ορό μπορεί να αποτελέσουν έναν νέο βιοδείκτη αξιολόγησης της σοβαρότητας της πορφύρας Henoch–Schönlein (HSP) και εντοπισμού της παρουσίας Συστηματικής Αγγειίτιδας (SV) σε φλεγμονώδεις δερματικές παθήσεις

Οι συστηματικές αγγειίτιδες αποτελούν μια ετερογενή ομάδα ασθενειών. Χαρακτηρίζονται από φλεγμονή των αγγείων, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε απόφραξη τους και ακόμη και στο σχηματισμό ανευρύσματος (Sebastiani, Manfredi, & Ferri, 2017).

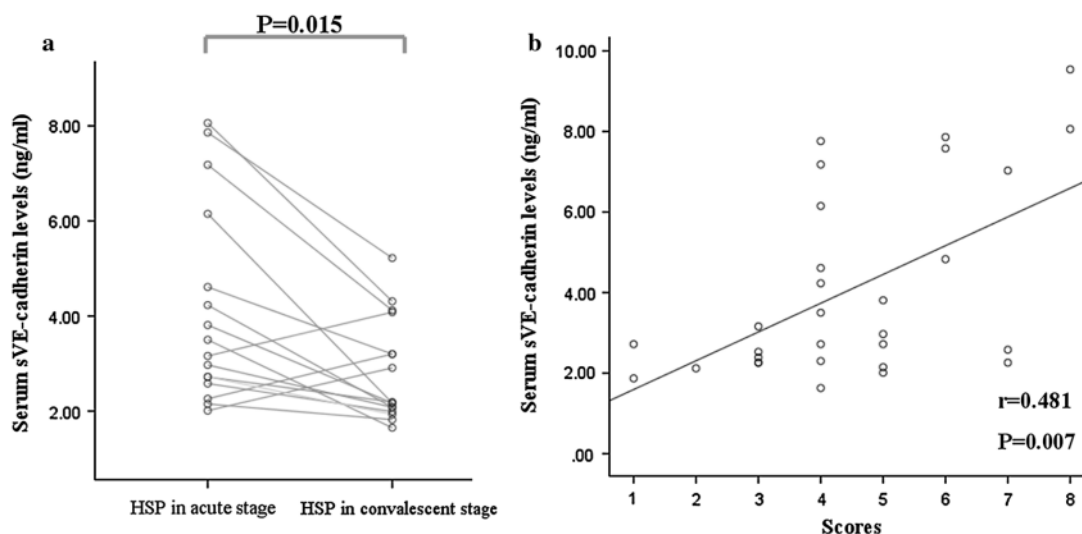
Στην έρευνά τους αυτή, ο Chen και οι συνεργάτες του διερεύνησαν τα επίπεδα της sVE-cadherin στον ορό ασθενών με πορφύρα Henoch–Schönlein (HSP), τη συχνότερη συστηματική αγγειίτιδα (SV) στην παιδική ηλικία που χαρακτηρίζεται από μια φλεγμονώδη αντίδραση που κατευθύνεται στα αγγεία, αλλά και σε ασθενείς με άλλες μορφές SV. Οι ερευνητές μέτρησαν τα επίπεδα της sVE-cadherin στον ορό σε 30 ασθενών με HSP, 20 ασθενών με κνιδιακή αγγειίτιδα (Urticarial Vasculitis – UV), 13 με αλλεργική αγγειίτιδα (Allergic Vasculitis – AV), 12 με νόσο Behcet (Behcet Disease – BD), 20 με κοινή ψωρίαση (Psoriasis Vulgaris - PV), 20 με ατοπική δερματίτιδα (Atopic Dermatitis -AD) και σε 26 μάρτυρες ελέγχου (υγιή άτομα). Τα επίπεδα της sVE-cadherin ποσοτικοποιήθηκαν με διαθέσιμα στο εμπόριο κιτ ELISA σύμφωνα με τις οδηγίες των κατασκευαστών. Ακολούθησε στατιστική ανάλυση για τον καθορισμό των διαφορών μεταξύ των διαφόρων ομάδων καθώς και μια ακόλουθη ανάλυση συσχέτισης για τη διερεύνηση των σχέσεων των επιπέδων της sVE-cadherin στον ορό με τη σοβαρότητα της νόσου σε ασθενείς με HSP.

Όπως φαίνεται στον παρακάτω Πίνακα, τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν σημαντικά αυξημένα επίπεδα sVE-cadherin σε ασθενείς με HSP σε οξύ στάδιο αλλά και σε ασθενείς με άλλες μορφές SV αλλά όχι σε ασθενείς με PV ή AD.

	HSP	UV	AV	BD	PV	AD	Controls
Number	30	20	13	12	20	20	26
Age (range)	22 (10–40)	21 (11–41)	26 (14–35)	24 (16–34)	23 (13–39)	24 (10–35)	24 (15–32)
Sex (M/F)	14/16	10/10	6/7	6/6	11/9	12/8	13/13
Disease activity	4.5 (1–8) ^a	NA	NA	NA	19.6 (7.9–35.8) ^b	36.9 (22–73.6) ^c	NA
sVE-cadherin (U/ml)	12.28 ± 7.06	11.66 ± 6.98	13.42 ± 8.5	12.62 ± 7.84	7.87 ± 3.55	7.74 ± 2.81	6.92 ± 2.72
<i>P</i> value versus controls	0.001	0.002	0.005	0.007	NS	NS	NA

Πίνακας 1. Δημογραφικά στοιχεία των ομάδων και επίπεδα της sVE-cadherin στον ορό ασθενών με HSP, UV, AV, BD, PV, AD και στην ομάδα ελέγχου. NA: Non – Applicable (μη εφαρμόσιμο), NS: Non Significant (μη σημαντικό) (Chen et al., 2014)

Τα επίπεδα της sVE-cadherin στον ορό ασθενών με HSP συσχετίστηκαν με τη σοβαρότητα αυτής της νόσου.



Διάγραμμα 2. Συσχέτιση των επιπέδων της sVE-cadherin στον ορό : (a) σε ασθενείς με HSP σε οξύ στάδιο και σε στάδιο ανάρρωσης σε 16 ασθενείς, (b) με τα συνολικά κλινικά αποτελέσματα σε 30 ασθενείς (Chen et al., 2014)

Η ανάλυση συσχέτισης αυτή έδειξε αφενός ότι τα επίπεδα sVE-cadherin στον ορό 16 ασθενών με HSP στο οξύ στάδιο ήταν σημαντικά υψηλότερα από εκείνα στο στάδιο ανάρρωσης και αφετέρου μια θετική συσχέτιση των επιπέδων της sVE-cadherin και των συνολικών κλινικών αποτελεσμάτων σε 30 ασθενείς με HSP.

Επιπλέον, λαμβάνοντας υπόψιν προηγούμενες μελέτες όπου βρέθηκαν εξίσου υψηλά επίπεδα sVE-cadherin σε ασθενείς με στεφανιαία αθηροσκλήρωση και διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια, υποστήριξαν ότι τα επίπεδα sVE-cadherin στον ορό δεν αποτελούν ειδικό δείκτη του SV. Πρότειναν, πως τα αυξημένα επίπεδα της sVE-cadherin στον ορό μπορεί να αποτελέσουν έναν νέο βιοδείκτη για την αξιολόγηση της σοβαρότητας της HSP αλλά επίσης και ένα χρήσιμο εργαλείο για τον εντοπισμό της παρουσίας SV σε φλεγμονώδεις δερματικές παθήσεις. Τέλος, υποστήριξαν πως η πρωτεόλυση της πρωτεΐνης VE-cadherin μπορεί να εμπλέκεται στην παθογένεση της HSP και άλλων μορφών SV. Περιοριστικός παράγοντας της μελέτης αυτής στάθηκε ο μικρός αριθμός δειγμάτων, καθώς οι συγγραφείς υποστήριξαν ότι έρευνες μεγαλύτερης κλίμακας ήταν αναγκαίο να διεξαχθούν προκειμένου να πιστοποιηθεί η σημαντικότητα των ευρημάτων τους (Chen et al., 2014).

4.2.4. Η σημασία της sVE-cadherin στην πρόωμη ανίχνευση της προεκλαμψίας

Η προεκλαμψία είναι μια υπερτασική νόσος που εμφανίζεται κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και ορίζεται ως νεοεμφανιζόμενη υπέρταση (Karrar & Hong, 2023). Κύριο χαρακτηριστικό της νόσου αποτελεί η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία. Οι ερευνητές, λαμβάνοντας υπόψιν το γεγονός ότι η sVE-cadherin παίζει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση και ρύθμιση του ενδοθηλιακού φραγμού, προσπάθησαν με τα πειράματά τους να αποσαφηνίσουν με τη βοήθεια της sVE-cadherin την παθοφυσιολογία της νόσου της προεκλαμψίας. Στην μελέτη αυτή επιλέχθηκαν 60 έγκυες γυναίκες με πρόωμη εμφάνιση προεκλαμψίας και 60 με όψιμη εμφάνιση και συγκρίθηκαν με 120 μη επιλεγμένες εγκυμοσύνες που ταίριαζαν με την ηλικία των επιλεγμένων, η οποία αποτέλεσε την ομάδα ελέγχου. Οι ποσοτικές μετρήσεις της sVE-cadherin πραγματοποιήθηκαν και σε αυτήν την έρευνα με τη χρήση των ELISA κιτ σύμφωνα με τις οδηγίες των κατασκευαστών. Ακολούθησαν στατιστικές αναλύσεις και αναλύσεις συσχέτισης. Τα αποτελέσματα παρουσιάστηκαν ως μέσες τιμές.

Από τα σημαντικότερα αποτελέσματα της έρευνας ήταν η παρατήρηση ότι η συγκέντρωση της sVE-cadherin στον ορό ήταν υψηλότερη σε γυναίκες που εμφάνισαν προεκλαμψία, ειδικά σε περιπτώσεις πρόωμης έναρξης της πάθησης, σε σχέση με υγιείς εγκύους ($5.86 \pm 1.57 \text{ ng/mL}$ vs. $2.28 \pm 0.80 \text{ ng/mL}$), καθώς επίσης διαπιστώθηκε ότι αυτή η αύξηση συσχετίζεται θετικά με την αρτηριακή πίεση και αρνητικά με την ηλικία κύησης.

Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η sVE-cadherin μπορεί να αποτελέσει σημαντικό δείκτη για την πρόωμη ανίχνευση της προεκλαμψίας, έχοντας σημαντικές κλινικές επιπτώσεις. Τέλος, πρότειναν ότι περαιτέρω και πιο ολοκληρωμένες μελέτες καθίστανται αναγκαίες προκειμένου να διερευνηθεί καλύτερα η σχέση μεταξύ της αυξημένης αγγειακής διαπερατότητας ως ένδειξη ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας σε προεκλαμπτικές εγκύους και των επιπέδων της sVE-cadherin στον ορό (Acikgöz et al., 2024).

4.2.5. Η sVE-cadherin μπορεί να αποτελεί βιοδείκτη ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας σχετιζόμενη με στεφανιαία νόσο στον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (T2DM)

Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 (Type 2 Diabetes Mellitus - T2DM) είναι μια κοινή μεταβολική διαταραχή η οποία προδιαθέτει για διαβητική μυοκαρδιοπάθεια και αθηροσκληρωτική καρδιαγγειακή νόσο (CVD) και μπορεί να οδηγήσει σε καρδιακή ανεπάρκεια μέσω ποικίλων μηχανισμών. Σε αυτούς περιλαμβάνονται η ισχαιμία του μυοκαρδίου και η χρόνια υπερφόρτωση πίεσης. Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 σχετίζεται με αξιοσημείωτα αυξημένα συχνότητα καρδιαγγειακών παθήσεων. Στις καρδιαγγειακές

επιπλοκές συμπεριλαμβάνονται οι διαταραχές της μικροκυκλοφορίας και οι ενδοθηλιακές δυσλειτουργίες, οι οποίες προηγούνται της αθηροσκλήρωσης (De Rosa et al., 2018).

Στη συγκεκριμένη έρευνα συμμετείχαν 2 ομάδες ασθενών με T2DM. Η μια ομάδα A (n = 40) αποτελούνταν από ασθενείς με T2DM με στεφανιαία νόσο, ενώ ομάδα B (n = 45) από ασθενείς με T2DM χωρίς στεφανιαία νόσο ή άλλες επιπλοκές. Μια ακόμη ομάδα (ομάδα C, n=80) αποτελούνταν από υγιή άτομα και αποτέλεσε την ομάδα ελέγχου. Σκοπός της συγκεκριμένης έρευνας ήταν η διερεύνηση των σχέσεων των επιπέδων της sVE-cadherin με αυτά παραμέτρων ενδοθηλιακής λειτουργίας, όπως η ενδοθηλίνη-1 (ET-1), το μονοξειδίο του αζώτου, η συνθάση του μονοξειδίου του αζώτου και η γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη HbA_{1c}, σε ασθενείς με διαβήτη τύπου 2 και στεφανιαία νόσο (Coronary Artery Disease - CAD). Οι συγκεντρώσεις των sVE-cadherin, ET-1, μονοξειδίου του αζώτου και συνθάσης του μονοξειδίου του αζώτου προσδιορίστηκαν με ποσοτική sandwich ELISA και οι τιμές εκφράστηκαν ως μέσες τιμές και τις τυπικές αποκλίσεις τους. Στο αίμα των ασθενών προσδιορίστηκαν με διάφορες βιοχημικές μεθόδους και άλλες μεταβλητές όπως η ολική χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια, η λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας (LDL) και η λιποπρωτεΐνη υψηλής συχνότητας (HDL). Όπως φαίνεται στον παρακάτω Πίνακα (Πίνακας 2), οι αναλύσεις της έρευνας έδειξαν ότι τα επίπεδα VE-cadherin στο πλάσμα συσχετίστηκαν ανεξάρτητα και σημαντικά με την HbA_{1c} και την ET-1, καθώς επίσης τα επίπεδα αυτού του διαλυτού μορίου εμφανίστηκαν σημαντικά υψηλότερα σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη και στεφανιαία νόσο. Επιπλέον, ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη είχαν υψηλότερα επίπεδα VE-cadherin σε σύγκριση με υγιή άτομα (Ομάδα A: 1.87 ± 0.14 ug/ml, Ομάδα B: 1.77 ± 0.11 ug/ml, Ομάδα C: 1.66 ± 0.17 ug/ml).

	Group A (n = 40)	Group B (n = 45)	Group C (n = 80)
Age (years)	55.28 ± 12.01	57.18 ± 7.06	52.10 ± 10.31
BMI (kg/m ²)	24.2 ± 2.11	25.47 ± 3.32	23.73 ± 1.78
Hypertension, n (%)	39 (97.5)	43 (95.6)	79 (98.8)
TC (mmol/L)	2.44 ± 1.50	2.36 ± 1.02	2.19 ± 0.39
TG (mmol/L)	1.77 ± 0.89	1.61 ± 0.71	1.57 ± 0.86
LDL-C (mmol/L)	2.87 ± 0.79	2.77 ± 1.80	2.48 ± 0.94
HDL-C (mmol/L)	1.13 ± 0.19	1.26 ± 0.25	1.19 ± 0.38
HbA _{1c} (%)	7.58 ± 1.18 ^{a,b}	5.84 ± 0.31 ^a	4.68 ± 0.24
VE-cadherin (ug/ml)	1.87 ± 0.14 ^{a,b}	1.77 ± 0.11 ^a	1.66 ± 0.17
ET (pg/ml)	49.94 ± 5.92 ^{a,b}	46.44 ± 1.59 ^a	44.37 ± 3.20
NO (umol/L)	37.56 ± 4.10 ^{a,b}	45.13 ± 13.20 ^a	53.21 ± 6.95
NOS (umol/L)	13.97 ± 3.71 ^{a,b}	16.75 ± 3.10 ^a	21.8 ± 8.18

Πίνακας 2. Τα βασικά χαρακτηριστικά των 3 ομάδων ατόμων που μελετήθηκαν. Ομάδα A: ασθενείς με T2DM και στεφανιαία νόσο, Ομάδα B: ασθενείς με T2DM χωρίς στεφανιαία νόσο, Ομάδα C: ομάδα ελέγχου (Yan et al., 2015)

Σύμφωνα με αυτά τα ευρήματα, οι ερευνητές υποστήριξαν ότι τα επίπεδα της διαλυτής μορφής της VE-cadherin μπορεί να αποτελούν ένα βιοδείκτη για κάποια ενδοθηλιακή δυσλειτουργία που σχετίζεται με τη στεφανιαία νόσο στον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Και σε αυτήν την έρευνα ωστόσο, περιορισμό αποτέλεσε ο μικρός αριθμός δειγμάτων (Yan et al., 2015).

4.2.6. Αυξημένες συγκεντρώσεις sVE-cadherin: Νέος βιοδείκτης ενδοθηλιακής βλάβης σε ασθενείς με STEC-HUS

Η συγκεκριμένη μελέτη της Doulgere και των συνεργατών της πραγματοποιήθηκε με σκοπό τη διερεύνηση της απελευθέρωσης της VE-cadherin από το ενδοθήλιο κατά τη διάρκεια της λοίμωξης STEC (Shiga toxin 2 που παράγεται από *Escherichia coli*) σε ασθενείς με αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο (HUS), καθώς επίσης και για το αν θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για τη διάγνωση της νόσου. Το αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο που σχετίζεται με το *Escherichia coli* που παράγει τοξίνη Shiga (STEC-HUS) ανήκει σε μια ετερογενή ομάδα ασθενειών, τις θρομβωτικές μικροαγγειοπάθειες. Προκαλείται από γαστρεντερική λοίμωξη από *E. coli*, το οποίο παράγει την τοξίνη Shiga και ονομάζεται επίσης «τυπικό» HUS (Joseph et al., 2020). Οι ερευνητές προσδιόρισαν τις συγκεντρώσεις της sVE-cadherin στο πλάσμα 356 ασθενών της Βόρειας Ευρώπης, κατηγοριοποιημένων σε 3 διακριτές ομάδες: σε ασθενείς με λοίμωξη STEC που συνοδεύονταν από HUS (STEC-HUS), σε STEC ασθενείς χωρίς HUS (STEC) και μια ομάδα ελέγχου χωρίς μόλυνση STEC. Κοινός παρονομαστής όλων των ομάδων ήταν η διάρροια. Συσχέτισαν τα επίπεδα της sVE-cadherin με τη σοβαρότητα της νόσου σύμφωνα με κοινούς κλινικούς παράγοντες όπως αλλαγές στη γαλακτική αφυδρογονάση, την αιμοσφαιρίνη, την κρεατινίνη, τον αριθμός αιμοπεταλίων, της απτοσφαιρίνης και διάφορα νευρολογικά συμπτώματα. Ο ποσοτικός προσδιορισμός της sVE-cadherin προσδιορίστηκε και εδώ με την τεχνική ELISA σε δείγματα από πλάσμα ηπαρίνης. Κατά την εισαγωγή των ασθενών, οι ερευνητές παρατήρησαν ότι η συγκέντρωση της VE-καντερίνης είχε την τάση να είναι χαμηλότερη σε ασθενείς με STEC-HUS σε σύγκριση με άλλους ασθενείς. Ωστόσο, οι ασθενείς με HUS εμφάνισαν αργότερα μια αύξηση στις συγκεντρώσεις της VE-καντερίνης, η οποία διατηρήθηκε πέρα από την περίοδο της ύφεσης της νόσου. Αυτό το μοτίβο διαφοροποιήθηκε από αυτό που παρατηρήθηκε σε ασθενείς που δεν είχαν αναπτύξει το σύνδρομο HUS.

Συμπερασματικά, οι ερευνητές πρότειναν ότι καθώς οι συγκεντρώσεις sVE-cadherin ήταν αυξημένες σε ασθενείς STEC-HUS, μπορεί αυτό το μόριο να είναι βιοδείκτης που αντανακλά την ενδοθηλιακή βλάβη σε ασθενείς με HUS. Περιορισμό στην έρευνα

αποτέλεσε ο συγκριτικά μικρότερος αριθμός μετρήσεων σε ασθενείς με STEC χωρίς HUS και στις ομάδες ελέγχου σε σχέση με τους ασθενείς STEC-HUS, λόγω περιορισμένης περιόδου νοσηλείας των πρώτων (Doulgere et al., 2014).

4.2.7. Η σημασία της sVE-cadherin στη σήψη

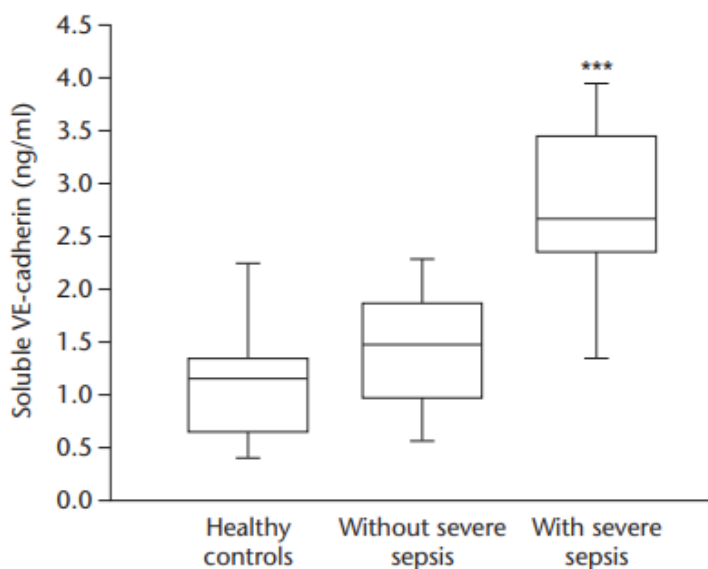
Η σήψη χαρακτηρίζεται ως συστηματική φλεγμονώδης απόκριση σε ένα μικροβιακό παθογόνο. Αν και η θνησιμότητα που σχετίζεται με τη σήψη έχει μειωθεί τα τελευταία 20 χρόνια, παραμένει η κύρια αιτία θανάτου στις μη καρδιακές μονάδες εντατικής θεραπείας με ποσοστά θνησιμότητας 30–50%. Ένα από τα βασικότερα χαρακτηριστικά γνωρίσματα στην παθογένεση της σήψης είναι η αγγειακή υπερδιαπερατότητα. Ένα άλλο χαρακτηριστικό τόσο της σήψης όσο και της συστηματικής φλεγμονής είναι η διάσπαση της μικροκυκλοφορίας. Στην διαδικασία αυτή η ενεργοποίηση και η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο. Η τριχοειδική διαπερατότητα, η οποία αποτελεί ένα αυστηρά ρυθμιζόμενο χαρακτηριστικό της μικροκυκλοφορίας σε όλα τα στρώματα οργάνων, μεταβάλλεται θεμελιωδώς στη σήψη, με αποτέλεσμα την καθαρή εξαγγείωση υγρού από τον αγγειακό χώρο στους ιστούς. Επιπλέον, τα άτομα με σήψη μπορούν να αναπτύξουν σοκ και πολυοργανική δυσλειτουργία και διατρέχουν μεγάλο κίνδυνο θανάτου.

Έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές μελέτες που συνδέουν τα επίπεδα της sVE-cadherin σε ασθενείς με σήψη καθώς και σε σχετιζόμενες με σήψη παθολογικές καταστάσεις. Ορισμένες από αυτές παρατίθενται παρακάτω:

- **Συσχέτιση των επιπέδων της sVE-cadherin με τη σοβαρότητα και την πρόγνωση της σήψης**

Στην μελέτη αυτή οι ερευνητές προσπάθησαν να διερευνήσουν αν τα επίπεδα της sVE-cadherin είναι αυξημένα σε ασθενείς με σήψη, τους μηχανισμούς που εμπλέκονται στη διαδικασία, καθώς επίσης και το αν τα επίπεδα του διαλυτού αυτού μορίου σχετίζονται με τη σοβαρότητα και την πρόγνωση της σοβαρής σήψης. Στην έρευνα συμμετείχαν 28 βαρέως πάσχοντες ασθενείς με ή χωρίς σοβαρή σήψη που εισήχθησαν σε χειρουργική εντατική θεραπεία, καθώς και 13 υγιείς εθελοντές που ταιριάζουν με την ηλικία και αποτέλεσαν τους μάρτυρες ελέγχου. Η συγκέντρωση της sVE-cadherin μετρήθηκε με τη δοκιμασία ELISA χρησιμοποιώντας ένα kit ELISA αντι-ανθρώπινων sVE-cadherin σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Από τα σημαντικότερα ευρήματα αποτέλεσε το πόρισμα ότι βρέθηκαν

σημαντικά αυξημένα επίπεδα sVE-cadherin σε ασθενείς με σοβαρή σήψη (μέση τιμή: 2,64 ng/ml, εύρος: 1,34 – 3,94 ng/ml) σε σύγκριση με ασθενείς χωρίς σοβαρή σήψη (μέση τιμή: 1,46 ng/ml, εύρος: 0,56 – 2,29 ng/ml) και υγιείς μάρτυρες (μέση τιμή: 1,13 ng/ml, εύρος: 0,40 – 2,24 ng/ml) (Διάγραμμα 2.).



Διάγραμμα 3. Συγκεντρώσεις της sVE-cadherin στον ορό ασθενών με σοβαρή σήψη, ασθενών χωρίς σοβαρή σήψη και της ομάδας ελέγχου (Zhang et al., 2010)

Υπήρχε σημαντική γραμμική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της sVE-cadherin και των βαθμών σοβαρότητας της νόσου. Επιπλέον, τα επίπεδα του μορίου ήταν σημαντικά υψηλότερα στους ασθενείς που πέθαναν σε σύγκριση με τους επιζώντες. Η *in vitro* κυτταρική καλλιέργεια έδειξε ότι ο ορός από ασθενείς με σοβαρή σήψη μείωσε σημαντικά τη χρώση της VE-cadherin στις δια-κυτταρικές συνδέσεις και την ολική έκφραση της VE-cadherin στα HUVECs. Με βάση τα αποτελέσματά τους οι ερευνητές πρότειναν ότι τα ενδοθηλιακά κύτταρα παίζουν σημαντικό ρόλο στην κακή έκβαση των ασθενών με σοβαρή σήψη. Ωστόσο, σημείωσαν ότι έρευνες μεγαλύτερης κλίμακας καθίστανται αναγκαίες προκειμένου να επιβεβαιωθούν τα αποτελέσματα της έρευνάς τους (Zhang et al., 2010).

- **Η sVE-cadherin ως προγνωστικός δείκτης σε ασθενείς με σοβαρή σήψη: Σύνδεση με νεφρική βλάβη και οργανική δυσλειτουργία**

Η μελέτη αυτή αφορούσε βαρέως πάσχοντες ενήλικες με σήψη και οξεία αναπνευστική ανεπάρκεια. Συσχετίστηκαν τα επίπεδα της sVE-cadherin με την ανάπτυξη οξείας νεφρικής βλάβης (AKI), της θεραπείας νεφρικής υποκατάστασης στην AKI (AKI-RRT), τη δυσλειτουργία άλλων οργάνων, τη πνευμονική έναντι τη μη πνευμονική σήψη, του συνδρόμου οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS) και της ενδονοσοκομειακής θνησιμότητας. Τα επίπεδα της sVE-cadherin μετρήθηκαν 2 φορές με δοκιμασία ELISA σε δείγματα πλάσματος με κιτρικό και ακολούθησε στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων. Συνοπτικά, η μελέτη έδειξε ότι η αυξημένη συγκέντρωση της sVE-cadherin στο αίμα σχετιζόταν ανεξάρτητα με σοβαρή ανεπάρκεια των νεφρών που απαιτεί θεραπεία νεφρικής υποκατάστασης σε ασθενείς με σοβαρή σήψη, καθώς επίσης και ότι τα επίπεδα sVE-cadherin συνδέονταν με την παρουσία ηπατικής ανεπάρκειας και τον συνολικό αριθμό δυσλειτουργιών των οργάνων. Ακόμη, βρέθηκε ότι ασθενείς που έπασχαν από μη πνευμονική σήψη εμφάνιζαν υψηλότερα επίπεδα sVE-cadherin σε σύγκριση με αυτούς που είχαν πνευμονική σήψη, υποδηλώνοντας ότι η βλάβη στο ενδοθήλιο είναι πιο προφανής στη μη πνευμονική σήψη. Ωστόσο, και σε αυτή την μελέτη οι ερευνητές πρότειναν την διεξαγωγή περισσότερων μελετών με την παρουσία μεγαλύτερων αριθμών δειγμάτων ασθενών προκειμένου να διαλευκανθεί ο ρόλος της απελευθέρωσης της VE-cadherin στη σηψαιμία που οφείλεται σε σοβαρή οξεία νεφρική βλάβη και να γίνει κατανοητή η σχέση μεταξύ των επιπέδων της sVE-cadherin και της σοβαρότητας της νεφρικής δυσλειτουργίας σε περιπτώσεις σήψης (Yu et al., 2019).

- **Η sVE-cadherin στη σήψη αναδεικνύει τη σημασία της στην ανίχνευση της μικροαγγειακής δυσλειτουργίας και τον κλινικό της δυναμικό ρόλο**

Η μελέτη αυτή αποτέλεσε μια άμεση προσέγγιση για τον έλεγχο ενός πιθανού κλινικού ρόλου της sVE-cadherin στη σήψη. Για τον σκοπό της έρευνας, ελήφθησαν δείγματα αίματος 7 ασθενών με σοβαρή σήψη και τα επίπεδα sVE-cadherin συγκρίθηκαν με 11 υγιή άτομα. Συνολικά, οι ερευνητές συμπέραναν ότι ο σχηματισμός της sVE-cadherin σχετίζεται και συμβάλλει στην επαγόμενη από φλεγμονή διάσπαση των λειτουργιών του ενδοθηλιακού φραγμού μέσω της αναστολής της δέσμευσης της VE-καντερίνης. Ο υποκείμενος μηχανισμός της διάσπασης της VE-cadherin θεωρήθηκε κλινικής σημασίας αφού η sVE-cadherin αυξήθηκε σε ασθενείς με σοβαρή σήψη. Και η sVE-cadherin έχει τη δυνατότητα να αποτελέσει κλινικό δείκτη για την έγκαιρη ανίχνευση της απώλειας των λειτουργιών του μικροαγγειακού φραγμού στη σήψη. Αυτή η υπόθεση, ωστόσο, σημειώθηκε ότι πρέπει να διερευνηθεί σε μια συστηματική κλινική δοκιμή (Flemming et al., 2015).

- **Η sVE-cadherin συμβάλλει στην σοβαρότητα και την εξέλιξη του σπητικού σοκ**

Σκοπός της συγκεκριμένης μελέτης ήταν ο προσδιορισμός των σχέσεων μεταξύ των κυκλοφορούντων επιπέδων syndecan-1 (SYN-1), σφιγγοσίνης-1-φωσφορικής (S1P) (ενδοθηλιακός γλυκοκάλυκας) και VE-cadherin (ενώσεις ενδοθηλιακών κυττάρων), με τη σοβαρότητα της νόσου, και την επιβίωση. Οι ερευνητές κατέληξαν στο ότι τα κυκλοφορούντα συστατικά του ενδοθηλιακού γλυκοκάλυκα και των συνδέσμων ενδοθηλιακών κυττάρων παρέχουν πληροφορίες σχετικά με τη σοβαρότητα και την εξέλιξη του σπητικού σοκ, με ιδιαίτερη έμφαση στην περιστατική πήξη και τη νεφρική ανεπάρκεια (Piotti et al., 2021).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Είναι ευρέως αναγνωρισμένο ότι το ενδοθήλιο παίζει μείζονα ρόλο στην διατήρηση της αγγειακής υγείας, καθώς διαταραχή στη λειτουργία του μπορεί να οδηγήσει αγγειακή δυσλειτουργία και κατά συνέπεια σε ένα μεγάλο εύρος παθολογικών καταστάσεων και ασθενειών. Αδιαμφισβήτητη αποτελεί η συμβολή της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας στην ανάπτυξη αλλά και την εξέλιξη της καρδιαγγειακής νόσου. Η ενδοθηλιακή λειτουργία μπορεί να αξιολογηθεί *in vivo*, *in vitro*, με επεμβατικές ή μη επεμβατικές μεθοδολογίες, αλλά ο τακτικός προσδιορισμός της είναι δύσκολος, τεχνικά απαιτητικός και δεν είναι γενικά διαθέσιμος στην κλινική πρακτική (Sena et al., 2022). Συνεπώς, νέες, μη επεμβατικές και πιο αξιόπιστες τεχνικές για την αξιολόγηση της ενδοθηλιακής λειτουργίας θα αποτελέσουν ένα χρήσιμο εργαλείο για την κλινική διαδικασία της έγκαιρης διάγνωσης και της παρακολούθησης των ασθενών. Ένας αυξανόμενος όγκος στοιχείων υποστηρίζει ότι η μέτρηση βιοδεικτών στο αίμα είναι ο ευκολότερος και πιο κατατοπιστικός τρόπος για την αξιολόγηση της ακεραιότητας των ενδοθηλιακών λειτουργιών.

Η VE-cadherin, το ειδικό για τα ενδοθηλιακά κύτταρα ασβεστοεξαρτώμενο μόριο προσκόλλησης, διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην βιολογία των ενδοθηλιακών κυττάρων. Λόγω του γεγονότος ότι η διατήρηση του αγγειακού φραγμού ελέγχεται κατά κύριο λόγο από τις πρωτεΐνες προσκόλλησης των κυττάρων και ειδικά από την VE-cadherin, θα μπορούσε να εικαστεί ότι η διαλυτή μορφή αυτής της πρωτεΐνης προσκόλλησης, η sVE-cadherin, αποτελεί έναν καλό υποψήφιο βιοδείκτη ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας. Από τα σημαντικότερα πλεονεκτήματα της χρήσης αυτού του διαλυτού μορίου ως δείκτη, είναι η

αποκλειστική έκφραση της πρωτεΐνης VE-cadherin στα ενδοθηλιακά κύτταρα, καθώς επίσης και η δυνατότητα χρήσης μιας εύκολης, μη επεμβατικής δοκιμασίας ανίχνευσής της διαλυτής μορφής της από δείγμα αίματος των ασθενών. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, πληθώρα ερευνητικών μελετών έχουν μετρήσει τα επίπεδα της sVE-cadherin στο αίμα ασθενών προκειμένου να διαπιστωθεί η συμβολή αλλά και η συσχέτιση των επιπέδων της με διάφορες παθολογικές καταστάσεις. Λαμβάνοντας υπόψιν τη συμβολή της sVE-cadherin σε διάφορες φλεγμονώδεις καταστάσεις, μπορεί να υποθεθεί ότι αυτό το μόριο μπορεί να αποτελέσει έναν χρήσιμο δείκτη ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας στην φλεγμονώδη νόσο. Παρόλα αυτά, καθίσταται αναγκαίο να επισημανθεί ότι υψηλότερα επίπεδα sVE-cadherin έχουν διαπιστωθεί και σε άλλες κλινικές καταστάσεις, όπως το σοβαρό σύνδρομο υπερδιέγερσης των ωοθηκών (OHSS) και στην Οξεία Αορτική Ανατομή Τύπου Β (TBAD) καθιστώντας δύσκολο το συμπέρασμα σχετικά με την ειδικότητα του μορίου αυτού ως δείκτης παρακολούθησης της ασθένειας (Wang et al., 2023; Villasante et al., 2008).

Απαιτούνται, λοιπόν, μελλοντικές κλινικές δοκιμές μεγάλης κλίμακας για να καταδειχθεί το πραγματικό κλινικό ενδιαφέρον των επιπέδων της sVE-cadherin σε ασθένειες που σχετίζονται με αγγειακές διαταραχές. Τέλος, έχει υποστηριχθεί ότι οι κλασικοί ενδοθηλιακοί δείκτες έχουν περιορισμένη διαγνωστική αξία όταν μετρώνται μεμονωμένα. Μια προσέγγιση πολλαπλών βιοδεικτών, με συνδυασμό κλασικών και νέων βιοδεικτών, μπορεί επίσης να είναι μια επιλογή που θα πρέπει να εξεταστεί στο μέλλον (Leite et al., 2020).

BIBΛIOΓΡΑΦΙΑ

1. Acikgöz, A. S., Gök, K., Tüten, A., Kaya, B., Hamzaoğlu, K., Kolomuç Gayretli, T., Malik, E., & Güralp, O. (2024). Evaluation of serum levels of soluble vascular endothelial (sVE)-Cadherin in early- and late-onset preeclampsia serum sVE-cadherin levels in preeclampsia. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 37(1), 2326304. <https://doi.org/10.1080/14767058.2024.2326304>
2. Aird, W. C. (2003). Endothelial cell heterogeneity. *Critical Care Medicine*, 31(4 Suppl), S221-S230. <https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000057847.32590.C1>
3. Aird, W. C. (2007). Phenotypic heterogeneity of the endothelium: I. Structure, function, and mechanisms. *Circulation Research*, 100(2), 158-173. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000255691.76142.4a>
4. Aird, W. C. (2007). Phenotypic heterogeneity of the endothelium: II. Representative vascular beds. *Circulation Research*, 100(2), 174–190. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000255690.03436.ae>
5. Aisaka, K., Gross, S. S., Griffith, O. W., & Levi, R. (1989). NG-methylarginine, an inhibitor of endothelium-derived nitric oxide synthesis, is a potent pressor agent in the guinea-pig: Does nitric oxide regulate blood pressure in vivo? *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 160, 881–886.
6. Alharbi, R. A. (2020). Proteomics approach and techniques in identification of reliable biomarkers for diseases. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(3), 968–974. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.01.020>
7. Atherton, A., & Born, G. V. (1972). Quantitative investigations of the adhesiveness of circulating polymorphonuclear leucocytes to blood vessel walls. *The Journal of Physiology*, 222(2), 447-474. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1972.sp009808>
8. Basile, D. C., & Yoder, M. (2014). Renal endothelial dysfunction in acute kidney ischemia reperfusion injury. *Cardiovascular & Hematological Disorders - Drug Targets*, 14(1), 3–14. <https://doi.org/10.2174/1871529X1401140724093505>
9. Bennett, H. S., Luft, J. H., & Hampton, J. C. (1959). Morphological classifications of vertebrate blood capillaries. *American Journal of Physiology*, 196(2), 381-390. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1959.196.2.381>
10. Biomarkers Definitions Working Group. (2001). Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 69(3). Retrieved from <https://doi.org/10.1067/mcp.2001.113989>
11. Blaise, S., Polena, H., & Vilgrain, I. (2015). Soluble vascular endothelial-cadherin and auto-antibodies to human vascular endothelial cadherin in human diseases: Two new biomarkers

- of endothelial dysfunction. *Vascular Medicine*, 20(6), 557–565. <https://doi.org/10.1177/1358863X15591201>
12. Blaschuk, O. W., & Rowlands, T. M. (2002). Plasma membrane components of adherens junctions. *Molecular Membrane Biology*, 19(2), 75–80. <https://doi.org/10.1080/09687680110102909>
 13. Blaschuk, O. W., Sullivan, R., David, S., & Pouliot, Y. (1990). Identification of a cadherin cell adhesion recognition sequence. *Developmental Biology*, 139(1), 227-229. [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(90\)90290-y](https://doi.org/10.1016/0012-1606(90)90290-y)
 14. Borysenko, M., & Beringer, T. (1984). *Functional histology* (pp. 195-208). Boston: Little, Brown and Company.
 15. Breviario, F., Caveda, L., Corada, M., Martin-Padura, I., Navarro, P., Golay, J., Introna, M., Gulino, D., Lampugnani, M. G., & Dejana, E. (1995). Functional properties of human vascular endothelial cadherin (7B4/cadherin-5), an endothelium-specific cadherin. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 15(8), 1229-1239. <https://doi.org/10.1161/01.atv.15.8.1229>
 16. Chaudhry, R., Miao, J. H., & Rehman, A. (2022). Physiology, Cardiovascular. In *StatPearls*. Treasure Island, FL: StatPearls Publishing. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544333/>
 17. Chen, T., Guo, Z.-P., Cao, N., Qin, S., Li, M.-M., & Jia, R.-Z. (2014). Increased serum levels of soluble vascular endothelial-cadherin in patients with systemic vasculitis. *Rheumatology International*, 34(8), 1139–1143. <https://doi.org/10.1007/s00296-014-2949-7>
 18. Chia, P. Y., Teo, A., & Yeo, T. W. (2020). Overview of the assessment of endothelial function in humans. *Frontiers in Medicine (Lausanne)*, 7, 542567. <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.542567>
 19. Cines, D. B., Pollak, E. S., Buck, C. A., et al. (1998). Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *The Journal of The American Society of Hematology (Blood)*, 91(10), 3527-3561.
 20. Corada, M., Liao, F., Lindgren, M., Lampugnani, M. G., Breviario, F., Frank, R., Muller, W. A., Hicklin, D. J., Bohlen, P., & Dejana, E. (2001). Monoclonal antibodies directed to different regions of vascular endothelial cadherin extracellular domain affect adhesion and clustering of the protein and modulate endothelial permeability. *Blood*, 97(6), 1679-1684. <https://doi.org/10.1182/blood.v97.6.1679>
 21. Corada, M., Zanetta, L., Orsenigo, F., Breviario, F., Lampugnani, M. G., Bernasconi, S., Liao, F., Hicklin, D. J., Bohlen, P., & Dejana, E. (2002). A monoclonal antibody to vascular endothelial-cadherin inhibits tumor angiogenesis without side effects on endothelial permeability. *Blood*, 100(3), 905-911. <https://doi.org/10.1182/blood.v100.3.905>

22. Cuffaro, D., Scilabra, S. D., Spanò, D. P., Calligaris, M., Nuti, E., & Rossello, A. (2023). Metalloenzymes: Chapter 3.5 - A disintegrin and metalloproteinases (ADAMs) and tumor necrosis factor-alpha-converting enzyme (TACE). *In Academic Press* (pp. 207-237). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823974-2.00016-4>
23. Cyr, A. R., Huckaby, L. V., Shiva, S. S., & Zuckerbraun, B. S. (2020). Nitric oxide and endothelial dysfunction. *Critical Care Clinics*, 36(2), 307–321. <https://doi.org/10.1016/j.ccc.2019.12.009>
24. Daiber, A., Steven, S., Weber, A., Shuvaev, V. V., Muzykantov, V. R., Laher, I., Li, H., Lamas, S., & Münzel, T. (2017). Targeting vascular (endothelial) dysfunction. *British Journal of Pharmacology*, 174(12), 1591-1619. <https://doi.org/10.1111/bph.13517>
25. Dejana, E., Bazzoni, G., & Lampugnani, M. G. (1999). Vascular endothelial (VE)-cadherin: only an intercellular glue? *Experimental Cell Research*, 252(1), 13-19. <https://doi.org/10.1006/excr.1999.4601>
26. Dejana, E., Orsenigo, F., & Lampugnani, M. G. (2008). The role of adherens junctions and VE-cadherin in the control of vascular permeability. *Journal of Cell Science*, 121(13), 2115–2122. <https://doi.org/10.1242/jcs.017897>
27. Dejana, E., & Vestweber, D. (2013). The role of VE-cadherin in vascular morphogenesis and permeability control. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 116, 119-144. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394311-8.00006-6>
28. dela Paz, N. G., & D'Amore, P. A. (2009). Arterial versus venous endothelial cells. *Cell and Tissue Research*, 335(1), 5-16. <https://doi.org/10.1007/s00441-008-0706-5>
29. De Rosa, S., Arcidiacono, B., Chiefari, E., Brunetti, A., Indolfi, C., & Foti, D. P. (2018). Type 2 diabetes mellitus and cardiovascular disease: Genetic and epigenetic links. *Frontiers in Endocrinology (Lausanne)*, 9, 2. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00002>
30. Devaraj, S., Singh, U., & Jialal, I. (2009). The evolving role of C-reactive protein in atherothrombosis. *Clinical Chemistry*, 55(2), 229-238. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.108886>
31. Doulgere, J., Otto, B., Nassour, M., Wolters-Eisfeld, G., Rohde, H., Magnus, T., Wagener, C., & Streichert, T. (2015). Soluble plasma VE-cadherin concentrations are elevated in patients with STEC infection and haemolytic uraemic syndrome: A case-control study. *BMJ Open*, 5(3), e005659. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2014-005659>
32. Duluc, L., & Wojciak-Stothard, B. (2014). Rho GTPases in the regulation of pulmonary vascular barrier function. *Cell and Tissue Research*, 355(3), 675-685. <https://doi.org/10.1007/s00441-014-1805-0>
33. Durand, M. J., & Gutterman, D. D. (2013). Diversity in mechanisms of endothelium-dependent vasodilation in health and disease. *Microcirculation*, 20(3), 239-247. <https://doi.org/10.1111/micc.12040>

34. De Wever, O., Derycke, L., Hendrix, A., De Meerleer, G., Godeau, F., Depypere, H., & Bracke, M. (2007). Soluble cadherins as cancer biomarkers. *Clinical & Experimental Metastasis*, 24(8), 685–697. <https://doi.org/10.1007/s10585-007-9104-8>
35. Elangbam, C. S., Qualls, C. W. Jr., & Dahlgren, R. R. (1997). Cell adhesion molecules--update. *Veterinary Pathology*, 34(1), 61-73. <https://doi.org/10.1177/030098589703400113>
36. Fishman, A. P. (1982). Endothelium: A distributed organ of diverse capabilities. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 401, 1-8. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1982.tb25702.x>
37. Fitridge, R., & Thompson, M. (Eds.). (2011). *Mechanisms of Vascular Disease: A Reference Book for Vascular Specialists*. Adelaide, Australia: University of Adelaide Press. ISBN-13: 978-0-9871718-2-5
38. Flemming, S., Burkard, N., Renschler, M., Vielmuth, F., Meir, M., Schick, M. A., ... Schlegel, N. (2015). Soluble VE-cadherin is involved in endothelial barrier breakdown in systemic inflammation and sepsis. *Cardiovascular Research*, 107, 32–44. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvv144>
39. Florey. (1966). The endothelial cell. *British Medical Journal*, 2, 487-490. <https://doi.org/10.1136/bmj.2.5512.487>
40. Franke, W. W., Cowin, P., Grund, C., Kuhn, C., & Kapprell, H. P. (1988). The endothelial junction: The plaque and its component. In N. Simionescu & M. Simionescu (Eds.), *Endothelial Cell Biology in Health and Diseases* (pp. 147–166). Plenum Publishing Corporation.
41. Fox, N., & Growdon, J. H. (2004). Biomarkers and surrogates. *NeuroRx*, 1(2), 181. PMID: PMC534922.
42. Giannotta, M., Trani, M., & Dejana, E. (2013). VE-cadherin and endothelial adherens junctions: active guardians of vascular integrity. *Developmental Cell*, 26(5), 441-454. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2013.08.020>
43. Goodison, S., Urquidi, V., & Tarin, D. (1999). CD44 cell adhesion molecules. *Molecular Pathology*, 52(4), 189-196. <https://doi.org/10.1136/mp.52.4.189>
44. Grabowska, M. M., & Day, M. L. (2014). Soluble E-cadherin: More than a symptom of disease. *Frontiers in Bioscience (Landmark Ed.)*, 17, 1948–1964. <https://doi.org/10.2741/4031>
45. Grover-Pa´ez, F., & Zavalza-Go´mez, A. B. (2009). Endothelial dysfunction and cardiovascular risk factors. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 84(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2008.12.011>

46. Gui, F., You, Z., Fu, S., Wu, H., & Zhang, Y. (2020). Endothelial dysfunction in diabetic retinopathy. *Frontiers in Endocrinology*, *11*, 591. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00591>
47. Habibagahi, M., Mostafavipour, Z., Lotfi, M., Dehghani, M., Jaberipour, M., & Dehghan, H. (2009). High concentration of soluble form of vascular endothelial cadherin in sera of patients with prostate cancer. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, *11*(4), 377-381.
48. Hadi, H. A. R., Carr, C. S., & Al Suwaidi, J. (2005). Endothelial dysfunction: Cardiovascular risk factors, therapy, and outcome. *Vascular Health and Risk Management*, *1*(3), 183-198. PMID: 17319104
49. Harki, O., Faury, G., Vilgrain, I., Pépin, J.-L., & Briançon-Marjollet, A. (2021). Reply: Soluble VE-cadherin: not just a marker of endothelial permeability. *European Respiratory Journal*, *58*(6), 2102629. <https://doi.org/10.1183/13993003.02629-2021>
50. Hayrapetyan, H., Tran, T., Tellez-Corrales, E., & Madiraju, C. (2023). Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 2612, pp. 1-17). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2903-1_1
51. Imig, J. D. (2020). Eicosanoid blood vessel regulation in physiological and pathological states. *Clinical Science (London)*, *134*(20), 2707-2727. <https://doi.org/10.1042/CS20191209>
52. Jaffe, E.A. (1987). Cell biology of endothelial cells. *Human Pathology*, *18*(2), 234-239. [https://doi.org/10.1016/S0046-8177\(87\)80005-9](https://doi.org/10.1016/S0046-8177(87)80005-9)
53. Jain, K. K. (2017). Technologies for discovery of biomarkers. In K. K. Jain (Ed.), *The Handbook of Biomarkers* (Second Edition, Chapter 2, pp. 27). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7431-3_2
54. Joseph, A., Cointe, A., Mariani Kurkdjian, P., Rafat, C., & Hertig, A. (2020). Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome: A narrative review. *Toxins*, *12*(2), 67. <https://doi.org/10.3390/toxins12020067>
55. Karrar, S. A., & Hong, P. L. (2023). Preeclampsia. In StatPearls [Internet]. Treasure Island, FL: StatPearls Publishing. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470590/>
56. Knop, J.-L., Burkard, N., Flemming, S., & Schlegel, N. (2022). Soluble VE-cadherin disrupts endothelial barrier function via VE-PTP/RhoA signalling. *The FASEB Journal*, *36*(S1). <https://doi.org/10.1096/fasebj.2022.36.S1.R2757>
57. Konstantoulaki, M., Kouklis, P., & Malik, A. B. (2003). Protein kinase C modifications of VE-cadherin, p120, and beta-catenin contribute to endothelial barrier dysregulation induced by thrombin. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, *285*(2), L434-L442. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00075.2003>

58. Lampugnani, M. G., Dejana, E., & Giampietro, C. (2018). Vascular Endothelial (VE)-Cadherin, Endothelial Adherens Junctions, and Vascular Disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 10(10), a029322. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a029322>
59. Lampugnani, M. G., Resnati, M., Raiteri, M., Pigott, R., Pisacane, A., Houen, G., Ruco, L. P., & Dejana, E. (1992). A novel endothelial-specific membrane protein is a marker of cell-cell contacts. *Journal of Cell Biology*, 118(6), 1511-1522. <https://doi.org/10.1083/jcb.118.6.1511>
60. Landmesser, U., Hornig, B., & Drexler, H. (2004). Endothelial function: A critical determinant in atherosclerosis? *Circulation*, 109(21 Suppl 1), II27-II33. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000129501.88485.1f>
61. Leckband, D., & Sivasankar, S. (2000). Mechanism of homophilic cadherin adhesion. *Current Opinion in Cell Biology*, 12(5), 587-592. [https://doi.org/10.1016/s0955-0674\(00\)00135-3](https://doi.org/10.1016/s0955-0674(00)00135-3)
62. Leite, A. R., Borges-Canha, M., Cardoso, R., Neves, J. S., Castro-Ferreira, R., & Leite-Moreira, A. (2020). Novel biomarkers for evaluation of endothelial dysfunction. *Angiology*, 71(1), 1-14. <https://doi.org/10.1177/0003319720903586>
63. Leite, A. R., Borges-Canha, M., Cardoso, R., Neves, J. S., Castro-Ferreira, R., & Leite-Moreira, A. (2020). Novel biomarkers for evaluation of endothelial dysfunction. *Angiology*, 71(5), 397-410. <https://doi.org/10.1177/0003319720903586>
64. le Noble, F., Moyon, D., Pardanaud, L., Yuan, L., Djonov, V., Matthijsen, R., Bréant, C., Fleury, V., & Eichmann, A. (2004). Flow regulates arterial-venous differentiation in the chick embryo yolk sac. *Development*, 131(2), 361-375. <https://doi.org/10.1242/dev.00929>
65. Li, S. Q., Lin, Y. N., Li, Q. Y. (2021). Soluble VE-cadherin: Not just a marker of endothelial permeability. *European Respiratory Journal*, 58, 2102241. <https://doi.org/10.1183/13993003.02241-2021>
66. Longmore Clinic. (2023). Understanding endothelial dysfunction. *LongmoreClinic.com*. <https://www.longmoreclinic.com/cardiovascular-specialists/understanding-endothelial-dysfunction>
67. Maltabe, V., & Kouklis, P. (2022). Vascular Endothelial (VE)-cadherin-mediated adherens junctions involvement in cardiovascular progenitor cell specification. *International Journal of Developmental Biology*, 66(1-2-3), 77-83. <https://doi.org/10.1387/ijdb.210167pk>
68. Martín-Ventura, J. L., Blanco-Colio, L. M., Tuñón, J., Muñoz-García, B., Madrigal-Matute, J., Moreno, J. A., Vega de Céniga, M., & Egido, J. (2009). Biomarkers in cardiovascular medicine. *Revista Española de Cardiología (English Edition)*, 62(6), 677-688. [https://doi.org/10.1016/s1885-5857\(09\)72232-7](https://doi.org/10.1016/s1885-5857(09)72232-7)
69. Matjuda, E. N., Engwa, G. A., Sewani-Rusike, C. R., & Nkeh-Chungag, B. N. (2021). An Overview of Vascular Dysfunction and Determinants: The Case of Children of African

- Ancestry. *Frontiers in Pediatrics*, 9, Article 769589. <https://doi.org/10.3389/fped.2021.769589>
70. Michiels, C. (2003). Endothelial cell functions. *Journal of Cellular Physiology*, 196(3), 430-443. <https://doi.org/10.1002/jcp.10333>
71. Moncada, S., & Higgs, A. (Eds.). (2006). *The Vascular Endothelium I* (Handbook of Experimental Pharmacology, Vol. 176/I). K. Starke (Editor-in-Chief). Freiburg i. Br.: Springer.
72. Mrugacz, M., Bryl, A., & Zorena, K. (2021). Retinal vascular endothelial cell dysfunction and neuroretinal degeneration in diabetic patients. *Journal of Clinical Medicine*, 10(3), 458. <https://doi.org/10.3390/jcm10030458>
73. Murray, P., Frampton, G., & Nelson, P. N. (1999). Cell adhesion molecules: Sticky moments in the clinic. *The BMJ*, 319(7206), 332-334. <https://doi.org/10.1136/bmj.319.7206.332>
74. NeoBiotechnologies. (n.d.). Significance of Western blotting. NeoBiotechnologies. <https://www.neobiotechnologies.com/resources/significance-of-western-blotting/>
75. Nollet, F., Kools, P., & van Roy, F. (2000). Phylogenetic analysis of the cadherin superfamily allows identification of six major subfamilies besides several solitary members. *Journal of Molecular Biology*, 299(3), 551-572. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2000.3777>
76. Orczyk, K., & Smolewska, E. (2020). How Does Endothelial Permeability Affect the Development of Juvenile Idiopathic Arthritis? Vascular Endothelial Cadherin as a Promising New Tool Helpful in the Diagnostic Process. *Disease Markers*, 2020, 8899061. <https://doi.org/10.1155/2020/8899061>
77. Pahwa, R., & Jialal, I. (Last Update: August 8, 2023). Atherosclerosis. In StatPearls [Internet]. Treasure Island, FL: StatPearls Publishing. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507799/>
78. Park-Windhol, C., & D'Amore, P. A. (2016). Disorders of vascular permeability. *Annual Review of Pathology*, 11, 251-281. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-012615-044506>
79. Patel, J. C. (2001). Functions of endothelium. *Indian Journal of Medical Sciences*, 55(3), 165-166.
80. Peairs, A. D., Shah, A. S., Summer, S., Hess, M., & Couch, S. C. (2017). Effects of the dietary approaches to stop hypertension (DASH) diet on glucose variability in youth with Type 1 diabetes. *Diabetes Management (London)*, 7(5), 383-391. PMID: 29333199
81. Phillips, S. A., Andaku, D. K., Mendes, R. G., Caruso, F. R., Cabiddu, R., Jaenisch, R. B., Arena, R., & Borghi-Silva, A. (2017). Exploring vascular function biomarkers: Implications for rehabilitation. *Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery*, 32(2), 125-135. <https://doi.org/10.21470/1678-9741-2016-0085>

82. Piotti, A., Novelli, D., Meessen, J. M. T. A., Ferlicca, D., Coppolecchia, S., Marino, A., Salati, G., Savioli, M., Grasselli, G., Bellani, G., Pesenti, A., Masson, S., Caironi, P., Gattinoni, L., Gobbi, M., Fracasso, C., & Latini, R. (2021). Endothelial damage in septic shock patients as evidenced by circulating syndecan-1, sphingosine-1-phosphate and soluble VE-cadherin: a substudy of ALBIOS. *Critical Care*, 25(1), 113. <https://doi.org/10.1186/s13054-021-03545-1>
83. Ponnuchamy, B., & Khalil, R. A. (2008). Role of ADAMs in endothelial cell permeability, cadherin shedding, and leukocyte rolling. *Circulation Research*, 102(10), 1139–1142. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.108.177394>
84. Pries, A. R., & Kuebler, W. M. (2006). Normal endothelium. In S. Moncada & A. Higgs (Eds.), *Handbook of Pharmacology: The Vascular Endothelium I* (pp. 2–40). <https://doi.org/10.1007/3-540-32967-6>
85. Przynsinda, A., Feng, W., & Li, G. (2020). Diversity of organism-wide and organ-specific endothelial cells. *Current Cardiology Reports*, 22(4), 19. <https://doi.org/10.1007/s11886-020-1275-9>
86. Pugsley, M. K., & Tabrizchi, R. (2000). The vascular system: An overview of structure and function. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 44(2), 333-340. [https://doi.org/10.1016/s1056-8719\(00\)00125-8](https://doi.org/10.1016/s1056-8719(00)00125-8)
87. Rajendran, P., Rengarajan, T., Thangavel, J., Nishigaki, Y., Sakthisekaran, D., Sethi, G., & Nishigaki, I. (2013). The vascular endothelium and human diseases. *International Journal of Biological Sciences*, 9(10), 1057–1069. <https://doi.org/10.7150/ijbs.7502>
88. Resink, T. J., Philippova, M., Joshi, M. B., Kyriakakis, E., & Erne, P. (2009). Cadherins in cardiovascular disease. *Swiss Medical Weekly*, 139(9-10), 122-134. <https://doi.org/10.4414/smw.2009.12429>
89. Rho, S.-S., Ando, K., & Fukuhara, S. (2017). Dynamic regulation of vascular permeability by vascular endothelial cadherin-mediated endothelial cell-cell junctions. *Journal of Nippon Medical School*, 84(4), 148-159. <https://doi.org/10.1272/jnms.84.148>
90. Rhodin, J. A. G. (1974). *Histology*. Oxford University Press.
91. Rocha-e-Silva, M. (2016). Cardiovascular effects of shock and trauma in experimental models: A review. *Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery*, 31(1), 45–51. <https://doi.org/10.5935/1678-9741.20150065>
92. Rochefort, P., Chabaud, S., Pierga, J. Y., Tredan, O., Brain, E., Bidard, F. C., ... Bachelot, T. (2017). Soluble VE-cadherin in metastatic breast cancer: An independent prognostic factor for both progression-free survival and overall survival. *British Journal of Cancer*, 116, 356–361. <https://doi.org/10.1038/bjc.2016.427>

93. Rubanyi, G. M., & Vanhoutte, P. M. (1986). Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. *American Journal of Physiology*, 250(5 Pt 2), H822-H827. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1986.250.5.H822>
94. Satoh, M. (2012). Endothelial dysfunction as an underlying pathophysiological condition of chronic kidney disease. *Clinical and Experimental Nephrology*, 16(4), 518–521. <https://doi.org/10.1007/s10157-012-0646-y>
95. Schulz, B., Pruessmeyer, J., Maretzky, T., Ludwig, A., Blobel, C. P., Saftig, P., & Reiss, K. (2008). Disintegrin metalloprotease (ADAM) 10 regulates endothelial permeability and T cell transmigration by proteolysis of vascular endothelial cadherin. *Circulation Research*, 102(10), 1192–1201. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.107.169805>
96. Sebastiani, M., Manfredi, A., & Ferri, C. (2017). Cardiac involvement in systemic vasculitis. In R. Cimaz & T. Lehman (Eds.), *Handbook of Systemic Autoimmune Diseases* (Vol. 14, pp. 335-382). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803997-7.00014-4>
97. Sena, C. M., Gonçalves, L., & Seica, R. (2022). Methods to evaluate vascular function: A crucial approach towards predictive, preventive, and personalised medicine. *EPMA Journal*, 13(2), 209-235. <https://doi.org/10.1007/s13167-022-00280-7>
98. Shi, X. Y., Lu, H., Li, W. L., Tang, H. L., Xiong, J. J., Zhang, J. Q., Opolon, P., Legrand, C., Perricaudet, M., & Li, H. (2006). A soluble truncated cadherin induces breast cancer cell apoptosis and growth inhibition. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 132(9), 561-571. <https://doi.org/10.1007/s00432-006-0103-y>
99. Sidibé, A., Mannic, T., Arboleas, M., Subileau, M., Gulino-Debrac, D., Bouillet, L., Jan, M., Vandhuick, T., Le Loët, X., Vittecoq, O., & Vilgrain, I. (2012). Soluble VE-cadherin in rheumatoid arthritis patients correlates with disease activity: Evidence for tumor necrosis factor α -induced VE-cadherin cleavage. *Arthritis & Rheumatism*, 64(1), 77-87. <https://doi.org/10.1002/art.33336>
100. Sidibé, A., Polena, H., Mannic, T., Stidder, B., Bouillet, L., & Vilgrain, I. (2014). Soluble VE-cadherin: Toward a Marker of Endothelial Dysfunction. In J.-J. Feige, G. Pagès, & F. Soncin (Eds.), *Molecular Mechanisms of Angiogenesis* (pp. 461-484). Springer-Verlag France. https://doi.org/10.1007/978-2-8178-0466-8_23
101. Soeki, T., Tamura, Y., Shinohara, H., Sakabe, K., Onose, Y., & Fukuda, N. (2004). Elevated concentration of soluble vascular endothelial cadherin is associated with coronary atherosclerosis. *Circulation Journal*, 68, 1–5. <https://doi.org/10.1253/circj.68.1>
102. Stern, D. M., Esposito, C., Gerlach, H., Gerlach, M., Ryan, J., Handley, D., & Nawroth, P. (1991). Endothelium and regulation of coagulation. *Diabetes Care*, 14(2), 160–166. <https://doi.org/10.2337/diacare.14.2.160>
103. Sulkowska, M., Famulski, W., Wincewicz, A., Moniuszko, T., Kedra, B., Koda, M., Zalewski, B., Baltaziak, M., & Sulkowski, S. (2006). Levels of VE-cadherin increase

- independently of VEGF in preoperative sera of patients with colorectal cancer. *Tumori*, 92, 67-71. <https://doi.org/10.1177/030089160609200113>
104. Suzuki, S., Sano, K., & Tanihara, H. (1991). Diversity of the cadherin family: Evidence for eight new cadherins in nervous tissue. *Cell Regulation*, 2(4), 261–270. <https://doi.org/10.1091/mbc.2.4.261>
105. Takase, H., Chou, S. H.-Y., Hamanaka, G., Ohtomo, R., Islam, M. R., Lee, J. W., Hsu, L., Mathew, J., Reyes-Bricio, E., Hayakawa, K., Xing, C., Ning, M. M., Wang, X., Arai, K., Lo, E. H., & Lok, J. (2020). Soluble vascular endothelial-cadherin in CSF after subarachnoid hemorrhage. *Neurology*, 94, e1281-e1293. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000008868>
106. The Johns Hopkins University, The Johns Hopkins Hospital, and Johns Hopkins Health System. (2024). Overview of the Vascular System. Heart and Vascular. Retrieved from <https://www.hopkinsmedicine.org/health/conditions-and-diseases/overview-of-the-vascular-Overview%20of%20the%20Vascular%20System%20Heart%20and%20Vascular>
107. Vasan, R. S. (2006). Biomarkers of cardiovascular disease: Molecular basis and practical considerations. *Circulation*, 113(19), 2335-2362. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.104.482570
108. Vestweber, D. (2008). VE-cadherin: The major endothelial adhesion molecule controlling cellular junctions and blood vessel formation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 28(2), 223-232. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.107.158014>
109. Villasante, A., Pacheco, A., Pau, E., Ruiz, A., Pellicer, A., & Garcia-Velasco, J. A. (2008). Soluble vascular endothelial-cadherin levels correlate with clinical and biological aspects of severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Human Reproduction*, 23(3), 662–667. <https://doi.org/10.1093/humrep/dem426>
110. Vincent, P. A., Xiao, K., Buckley, K. M., & Kowalczyk, A. P. (2004). VE-cadherin: Adhesion at arm’s length. *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, 286(5), C987–C997. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00522.2003>
111. Wallez, Y., & Huber, P. (2008). Endothelial adherens and tight junctions in vascular homeostasis, inflammation and angiogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1778(3), 794-809. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2007.09.003>
112. Wang, S., Li, X., Jiang, H., & Zhang, J. (2023). High serum VE-cadherin and vinculin concentrations are markers of the disruption of vascular integrity during type B acute aortic dissection. *Journal of Clinical Medicine*, 12(14), 4730. <https://doi.org/10.3390/jcm12144730>
113. Wheelock, M. J., & Johnson, K. R. (2003). Cadherin-mediated cellular signaling. *Current Opinion in Cell Biology*, 15(5), 509-514. [https://doi.org/10.1016/s0955-0674\(03\)00101-7](https://doi.org/10.1016/s0955-0674(03)00101-7)

114. Wilson, S. H., & Lerman, A. (2001). Function of vascular endothelium. *In Heart Physiology and Pathophysiology* (p. 27). <https://doi.org/10.7150/ijbs.7502>
115. Xu, N., Jiang, S., Persson, P. B., Persson, E. A., Lai, E. Y., & Patzak, A. (2020). Reactive oxygen species in renal vascular function. *Acta Physiologica*, 229(1), e13477. <https://doi.org/10.1111/apha.13477>
116. Yan, Y., Chang, Q., Li, Q., Li, L., Wang, S., Du, R., & Hu, X. (2015). Identification of plasma vascular endothelial-cadherin as a biomarker for coronary artery disease in Type 2 diabetes mellitus patients. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 8(10), 19466-19470. Retrieved from <http://www.ijcem.com/ISSN:1940-5901/IJCEM0009519>
117. Yu, W. K., McNeil, B., Wickersham, N. E., Shaver, C. M., Bastarache, J. A., & Ware, L. B. (2019). Vascular endothelial cadherin shedding is more severe in sepsis patients with severe acute kidney injury. *Critical Care*, 23(1), 18. <https://doi.org/10.1186/s13054-019-2315-y>
118. Zhang, R.-Y., Liu, Y.-Y., Li, L., Cui, W., Zhao, K.-J., Huang, W.-C., Gu, X.-W., Liu, W., Wu, J., Min, D., Mao, E.-Q., & Tang, Y.-Q. (2010). Increased levels of soluble vascular endothelial cadherin are associated with poor outcome in severe sepsis. *Journal of International Medical Research*, 38(4), 1497-1506. <https://doi.org/10.1177/147323001003800433>

Διαδικτυακοί Σύνδεσμοι:

- <https://theory.labster.com/types-elisa/>
- <https://www.novusbio.com/application/western-blotting>