

¹Β' Παθολογική Κλινική, Γ.Ν.Α. «Η ΕΛΠΙΣ», Αθήνα.

²Μ.Ε.Θ., Γ.Ν.Α. «Η ΕΛΠΙΣ», Αθήνα.

³Εργαστήριο πειραματικής χειρουργικής και χειρουργικής έρευνας
Ιατρική Σχολή Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες ως διαγνωστικός και προγνωστικός δείκτης των αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων Μία νέα θεραπευτική πρόκληση

ΣΥΡΙΓΟΣ Δ.^{1,2}, ΠΑΠΑΛΙΜΝΑΙΟΥ Β.¹, ΑΥΓΟΥΣΤΑΤΟΥ Κ.², ΠΑΠΑΔΗΜΗΤΡΙΟΥ Λ.³, ΞΑΝΘΟΣ Θ.³

Τα Αγγειακά Εγκεφαλικά Επεισόδια (ΑΕΕ) είναι η δεύτερη αιτία θανάτου παγκοσμίως μετά τις καρδιοπάθειες και η κύρια αιτία ανικανότητας. Πολλές επιστημονικές μελέτες έχουν εστιάσει στην προσπάθεια εξεύρεσης παραγόντων που σχετίζονται με την διάγνωση και την πρόγνωση των ΑΕΕ με στόχο την ανακάλυψη νέων θεραπευτικών και πιο αποτελεσματικών θεραπευτικών σχημάτων.

Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες αποτελούν μια οικογένεια πρωτεασών οι οποίες εμπλέκονται στην παθογένεση, την διάγνωση αλλά και την πρόγνωση των ισχαιμικών εγκεφαλικών επεισοδίων. Ο ακριβής παθογενετικός μηχανισμός δράσης τους δεν έχει πλήρως αποσαφηνιστεί. Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες αποτελούν ένα νέο, φιλόδοξο ερευνητικό πεδίο που στο μέλλον δυνατόν να οδηγήσει σε πιο αποτελεσματικές παρεμβάσεις στην αντιμετώπιση αυτού του παγκόσμιου προβλήματος υγείας.

Λέξεις-κλειδιά: MMP, cerebrovascular disease, stroke, atherosclerosis

Εισαγωγή

Τα Αγγειακά Εγκεφαλικά Επεισόδια (ΑΕΕ) είναι η δεύτερη αιτία θανάτου παγκοσμίως μετά τις καρδιοπάθειες και η κύρια αιτία ανικανότητας, ενώ η επίπτωση της νόσου πιστεύεται ότι θα αυξηθεί σημαντικά τον 21^ο αιώνα.¹ Αυτό ώθησε την επιστημονική ερευνητική κοινότητα στην προσπάθεια εξεύρεσης παραγόντων που να σχετίζονται με την διάγνωση και την πρόγνωση των ΑΕΕ με απώτερο σκοπό την ανακάλυψη μέσω τροποποίησης της βαρύτητας αλλά και της έκβασης του παγκοσμίου αυτού προβλήματος υγείας.

Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες – παράγοντες που έχουν ιδιαίτερα μελετηθεί στα καρδιακά ισχαιμικά επεισόδια και στην αθηροσκλήρυνση – μελετώνται με όλο και μεγαλύτερο ενδιαφέρον παγκοσμίως. Πολλές σύγχρονες έρευνες – τόσο σε πειραματόζωα όσο και σε κλινικές σειρές – ρίχνουν όλο και περισσότερο φως σε ότι αφορά στην εμπλοκή των παραγόντων αυτών στην παθογένεση, τις επιπλοκές αλλά και την θεραπευτική προσέγγιση των αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων.

Η δράση τους δεν είναι ακόμη απολύτως γνωστή όμως, όλο και περισσότερα ερευνητικά πρωτόκολλα φιλοδοξούν να αποσαφηνίσουν τον ρόλο που διαδραματίζουν στην πρόγνωση, πρόληψη και πιθανόν στην θεραπευτική προσέγγιση των ισχαιμικών εγκεφαλικών βλαβών.

Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες

Μοριακή δομή

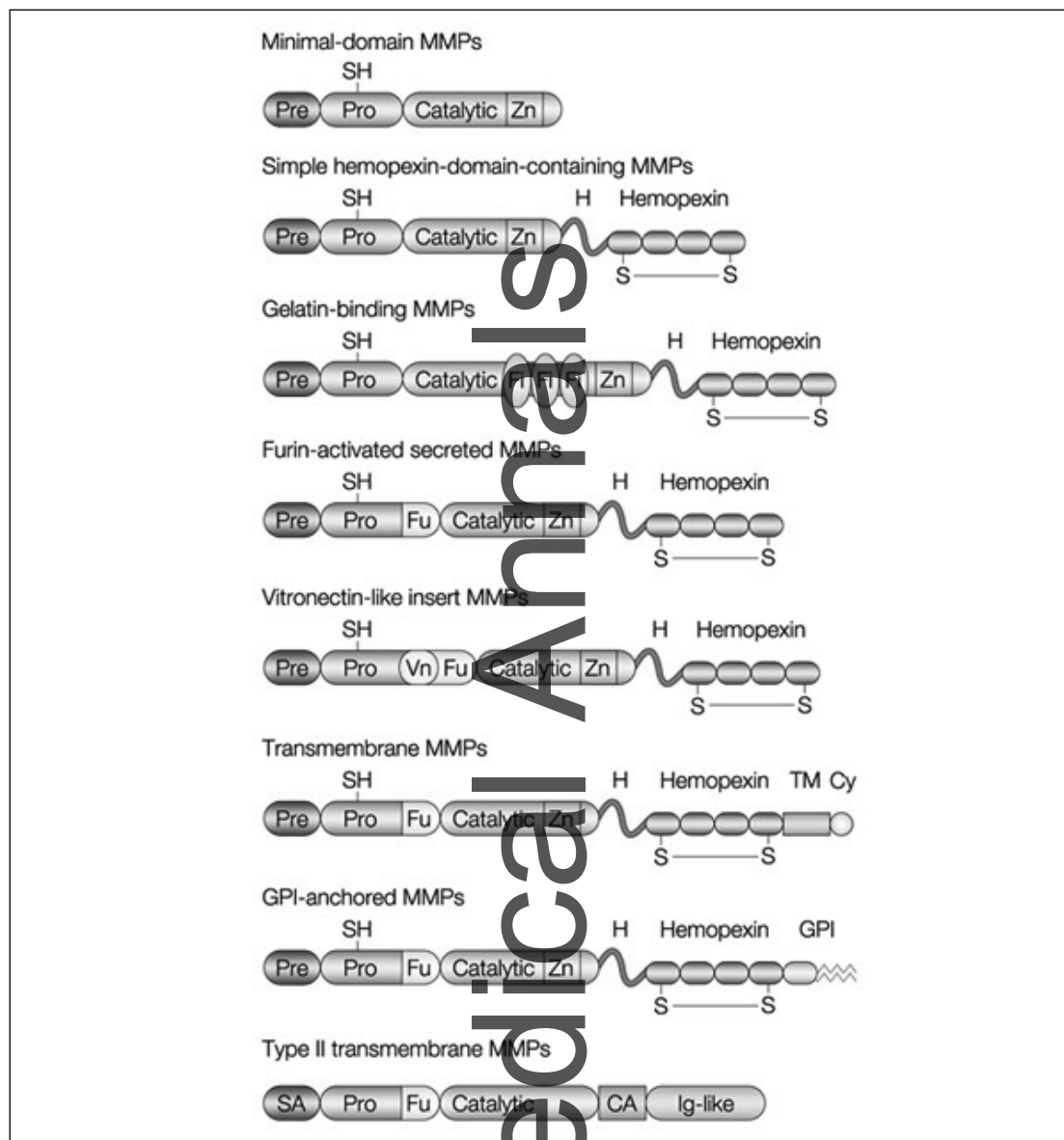
Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες (Matrix MetalloProteinases,

MMPs) παριστούν μια οικογένεια πρωτεολυτικών ενζύμων. Πρόκειται για εξαρτώμενες από τον ψευδάργυρο (zinc) ενδοπεπτιδάσες που στην διεθνή βιβλιογραφία αναφέρονται και ως metzincins. Οι MMPs διαιρούνται σε οκτώ διακριτές δομικές ομάδες, οι πέντε από τις οποίες είναι εκκριτικού τύπου, ενώ οι υπόλοιπες τρεις είναι μεμβρανικού τύπου.^{2,3} Οι οκτώ αυτές ομάδες των MMPs παρουσιάζονται στην Εικ. 1. Παριστούν εξωκυττάρια ή συνδεδεμένες με την κυτταρική μεμβράνη ενδοπεπτιδάσες που μεσολαβούν σε αντιδράσεις κυττάρου προς κύτταρο (cell-cell) και σε αντιδράσεις κυττάρου προς εξωκυτταρική θεμέλια ουσία (cell-extracellular matrix) και συσχετίζονται με πολυάριθμες παθολογικές καταστάσεις.⁴

Αθηροσκλήρυνση

Έχει μελετηθεί ο ρόλος των MMPs στην δημιουργία της αθηρογενετικής πλάκας και στην πρόκληση οξέων ισχαιμικών καρδιακών – περισσότερο – αλλά και εγκεφαλικών συμβαμάτων, αν και σε πολλά σημεία η όλη παθογενετική διεργασία είναι ακόμη ασαφής.^{5,6,7,8,9,10}

Στη αθηροσκλήρυνση τα κυκλοφορούντα αιμοπετάλια αλληλεπιδρούν με τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα μονοκύτταρα με αποτέλεσμα την κυτταρική διέγερση και την αύξηση της στρατολόγησης των λευκοκυττάρων στο αγγειακό τοίχωμα. Η δράση των μονοκυττάρων συνοδεύεται από υπερέκφραση των MMPs, η οποία δυνατόν να προάγει την αθηρωματική διεργασία και την ρήξη της αθηρωματικής πλάκας. Ο προαγωγέας των MMPs της εξωκυτταρικής θεμέλιας



ΕΙΚ. 1. Οι βασικές δομές των MMPs

ουσίας (Extracellular Matrix MetalloProteinase INducer, EMMPRIN) προάγει την σύνθεση των MMPs μέσω αγνώστου μηχανισμού. Ο EMMPRIN αποτελεί έναν σημαντικό ρυθμιστή της δραστηριότητας των MMPs. Ο EMMPRIN διεγείρει την έκκριση των MMP-9 από τα μονοκύτταρα και την έκκριση των MMP-2 από τα κύτταρα των λείων μυϊκών ινών.^{6,7,8,9} Ο Schmidt και συν. μελέτησαν πάσχοντες από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου συγκρίνοντάς τους με πάσχοντες από χρόνια σταθερή στηθάγχη. Διαπιστώθηκε αυξημένη έκφραση του EMMPRIN στην ομάδα των πασχόντων από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Αυτή η αυξημένη έκφραση καθιστά τον EMMPRIN ρυθμιστικό παράγοντα της δράσης

των MMPs στην παθογένεια των οξέων ισχαιμικών καρδιακών επεισοδίων.⁷

Οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου

Κατά την διάρκεια οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου οι MMPs προκαλούν αποδόμηση της εξωκυτταρικής θεμέλιας ουσίας και αλλαγές στα μυοκαρδιακά κύτταρα, τόσο αυτά που έχουν υποστεί νέκρωση όσο και σε εκείνα που είναι ανέπαφα (καρδιακή ανάπλαση, cardiac remodeling).¹¹

Σε πολυάριθμες μελέτες – τόσο σε πειραματοζώα όσο και σε κλινικές μελέτες – έχει διαπιστωθεί ότι τα αυξημένα επίπεδα των MMPs συσχετίζονται με την βαρύτητα, την πρόγνωση αλλά και την επιβίωση των

πασχόντων από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, ενώ η χρήση αναστολέα των MMPs δυνατόν στο μέλλον να συμβάλλει στην βελτίωση της έκβασης και της πρόγνωσης των ισχαιμικών καρδιοπαθειών.^{5, 8,9,11,12}

Άλλες παθολογικές καταστάσεις

Η δράση των MMPs έχει μελετηθεί σε πολυάριθμες φλεγμονώδεις καταστάσεις, όπως τα ρευματολογικά νοσήματα και οι εκφυλιστικές οστικές αλλοιώσεις^{13,14} καθώς επίσης στην καρκινογένεση και στην εμφάνιση μεταστασιατικών δευτεροπαθών εντοπίσεων.^{14,15,16,17,18}

Οι MMPs εμπλέκονται επίσης στην παθογένεια νευροεκφυλιστικών διαταραχών, όπως το γλαύκωμα,^{19,20} η νόσος Alzheimer,^{21,22} η άνοια της Επίκτητης Ανοσολογικής Ανεπάρκειας,^{23,24} η σκλήρυνση κατά πλάκας^{25,26} και τα Αγγειακά Εγκεφαλικά Επεισόδια (ΑΕΕ).^{27,28,29,30}

Μεταλλοπρωτεϊνάσες και Αγγειακά Εγκεφαλικά Επεισόδια

Δομή αιματοεγκεφαλικού φραγμού

Στον εγκέφαλο, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, συνδεδεμένα με ενδοθηλιακές διασυνδέσεις στεγανού τύπου (tight junctions), ορίζουν τον αιματο-εγκεφαλικό φραγμό (blood-brain barrier). Οι ενδοθηλιακές διασυνδέσεις αυτού του τύπου δεν σχηματίζουν ένα συνεχές στρώμα γύρω από τα κύτταρα, αλλά διακόπτονται κατά διαστήματα ή σχηματίζουν πόρους, ούτως ώστε να μπορεί να ρυθμίζεται η εκλεκτική διαπερατότητα των διαφόρων μορίων κάνοντας έτσι την όλη αυτή λειτουργία να μοιάζει με «κοσκίνισμα».³¹ Τα μόρια της εξωκυτταρικής θεμέλιας ουσίας συνιστούν την βασική μεμβράνη – η οποία βρίσκεται κάτω από το αγγειακό δίκτυο και παίζει αποφασιστικό ρόλο στην διατήρηση της ακεραιότητας του αιματο-εγκεφαλικού φραγμού.

Μετά από ένα εστιακό εγκεφαλικό επεισόδιο παρατηρείται διάσπαση του αιματο-εγκεφαλικού φραγμού, αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας, εισροή φλεγμονωδών παραγόντων και κυτταρικός θάνατος των νευρικών κυττάρων.³⁰

Σε πειραματικά μοντέλα εγκεφαλικής ισχαιμίας, η έκφραση των MMPs ήταν σημαντικά αυξημένη και συσχετίστηκε με την διάσπαση του αιματο-εγκεφαλικού φραγμού, την δημιουργία οίδηματος και την αιμορραγική μετατροπή.^{32,33}

Τα ισχαιμικά εγκεφαλικά επεισόδια πυροδοτούν έναν καταρράκτη γεγονότων, κάποια από τα οποία επισυμβαίνουν λίγα μόλις λεπτά μετά την έναρξη της νόσου, όπως η απελευθέρωση γλουταμίνης και άλλα που παρατηρούνται ώσιμα – ώρες ή και ημέρες μετά την απόφραξη του αγγείου – όπως η διήθηση από λευκοκύτταρα και το εγκεφαλικό οίδημα. Οι MMPs εμπλέκονται στην αποδόμιση της εξωκυτταρικής θεμέλιας ουσίας και συμμετέχουν – παίζοντας έναν πολύ σημαντικό ρόλο – σε αρκετά βήματα αυτού του καταρράκτη.^{27,34,35}

Η αυξημένη έκφραση των MMPs, - ιδίως της MMP-2 (gelatinase A) και της MMP-9 (gelatinase B) η οποία έχει παρατηρηθεί σε πειραματικά μοντέλα εγκεφαλικής

ισχαιμίας φαίνεται ότι σχετίζεται με την έκταση του εμφράκτου, την διάσπαση του αιματο-εγκεφαλικού φραγμού και την κακή πρόγνωση.^{36,37}

Έκταση εγκεφαλικού εμφράκτου

Η Rosell και συν. μελέτησαν ασθενείς πάσχοντες από ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο και διαπίστωσαν ότι η αυξημένη έκφραση των MMPs σχετίστηκε με αύξηση της έκτασης της εγκεφαλικής βλάβης – μετρούμενης με MRI-scan – το πρώτο 24ωρο μετά την έναρξη της νόσου. Οι ασθενείς το πρώτο 24ωρο χωρίστηκαν σε δύο ομάδες ανάλογα με την έκταση της εγκεφαλικής βλάβης και μετρήθηκαν συγκριτικά οι παράγοντες κινδύνου που δυνατόν να ευθύνονται για αυτήν την διαφορά στον όγκο της ισχαιμικής βλάβης. Διαπιστώθηκε ότι οι πάσχοντες οι οποίοι απεικονιστικά παρουσίαζαν πιο εκτεταμένη ισχαιμική βλάβη εμφάνιζαν υψηλότερη έκφραση των MMPs, ιδίως της MMP-9 και MMP-13 (collagenase-3).³⁸

Πολλά ερευνητικά πρωτόκολλα σε ζώα έχουν καταδείξει ότι η έκταση του εγκεφαλικού εμφράκτου προκαλείται από την δράση των MMPs, και ιδίως της MMP-9, η οποία υπερεκφράζεται στον παθολογικό ιστό. Πειραματική χορήγηση αναστολέα της MMP-9 σε τρωκτικά συσχετίστηκε με μείωση του μεγέθους του εμφράκτου και προστασία του αιματο-εγκεφαλικού φραγμού.

Ο Asahi και συν. μελέτησαν την έκφραση της MMP-9 σε ποντίκια μετά από προκλητή ισχαιμική εγκεφαλική βλάβη. Η ομάδα ελέγχου (control group) συνίστατο σε ομάδα ποντικών όπου είχε χορηγηθεί αναστολέας της MMP-9. Διαπίστωσαν ότι στην ομάδα ελέγχου, η αναστολή της έκφρασης της MMP-9 συσχετίστηκε με μείωση της έκτασης της ισχαιμικής βλάβης συγκριτικά με την ομάδα αναφοράς της μελέτης όπου η μεταλλοπρωτεϊνάση υπερεκφραζόταν.³⁹ Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν και από τις ερευνητικές μελέτες σε ποντίκια του Romanic και συν. όπου διαπιστώθηκε αυξημένη έκφραση των MMP-2 και MMP-9 στις ισχαιμικές εγκεφαλικές περιοχές, ενώ δεν διαπιστώθηκε υπερέκφραση σε μη ισχαιμικές περιοχές της ομάδας ελέγχου. Η αυξημένη αυτή έκφραση συσχετίστηκε με αύξηση της έκτασης της βλάβης. Η χορήγηση αναστολέα της έκφρασης των αντίστοιχων MMPs (Tissue Inhibitors of MMPs, TIMPs) – στην ομάδα ελέγχου – οδήγησε σε προστασία του εγκεφαλικού ιστού και σε μείωση της έκτασης της βλάβης.³⁰

Διάσπαση αιματο-εγκεφαλικού φραγμού

Μια σημαντική παθολογική συνέπεια της δράσης των Ps στην εγκεφαλική ισχαιμία είναι η διάσπαση του αιματο-εγκεφαλικού φραγμού μέσω της αποδόμησης της βασικής στιβάδας. Ο όλος παθογενετικός μηχανισμός δεν είναι πλήρως αποσαφηνισμένος. Σημαντικό ρόλο παίζουν ότι οι MMPs και οι TIMPs οι οποίες αλληλεπιδρούν μεταξύ τους αλλά και με παράγοντες φλεγμονής όπως οι κυτταροκίνες και οι υποδοχείς τους, αλλά και με στοιχεία της βασικής μεμβράνης γύρω από τα αγγεία όπως η λαμινίνη η φμπρονετίνη, το κολλαγόνο τύπου IV.^{33,40} Οι προ-

φλεγμονώδεις κυτταροκίνες (IL-1 TNFα, IL-6 και IFNγ) αποτελούν σημαντικούς ρυθμιστές της δράσης των MMPs και TIMPs.

Ένα πιθανό σενάριο συνίσταται συνοπτικά στα ακόλουθα βήματα: 1) Η ελάττωση της αιματικής ροής – σαν συνέπεια του εγκεφαλικού εμφράκτου – απελευθερώνει προ-φλεγμονώδεις κυτταροκίνες, ιδίως TNFα και IL-6. 2) οι προ-φλεγμονώδεις κυτταροκίνες αυξάνουν την απελευθέρωση MMP-9 από τα λευκοκύτταρα, ενώ ταυτόχρονα μειώνεται η έκφραση του TIMP-2. 3) Τα μειωμένα επίπεδα TIMP-2 έχει σαν αποτέλεσμα την αυξημένη έκφραση της MMP-2. 4) Η αυξημένη έκφραση του MMP-2 οδηγεί σε διάνοιξη του αιματο-εγκεφαλικού φραγμού. 5) Η πειραματική συμπληρωματική χορήγηση TIMP-2 δυνατόν να περιορίσει αυτές τις βλάβες.⁴¹

Πειραματική ενδοεγκεφαλική έγχυση MMPs – και ιδίως η MMP-2 – έχει σαν αποτέλεσμα την διάνοιξη του αιματο-εγκεφαλικού φραγμού με απακόλουθη την πρόκληση αιμορραγίας, ενώ η συμπληρωματική χορήγηση TIMP-2 δρα προστατευτικά προλαμβάνοντας αυτήν την επιπλοκή. Η πειραματική αναστολή της MMP-9 με την χορήγηση NITM-9 περιορίζει την έκταση της βλάβης και ελαχιστοποιεί την βλάβη στον αιματο-εγκεφαλικό φραγμό.⁴²

Αιμορραγική μετατροπή του ισχαιμικού εγκεφαλικού εμφράκτου

Οι MMPs εμπλέκονται και στην αιμορραγική μετατροπή του ισχαιμικού εμφράκτου μέσω μη σαφώς τεκμηριωμένου μηχανισμού. Οι MMPs – ιδίως η MMP-9 – ανιχνεύονται πολύ πρώιμα κατά την εγκατάσταση της ισχαιμικής βλάβης και πειραματικά χρώνυνται μαζί με τα ενδοθηλιακά κύτταρα και όψιμα με τα μακροφάγα.³⁰

Η έκφραση της MMP-9 από τα ενδοθηλιακά κύτταρα μέσα αλλά και περιφερικά της ισχαιμικής βλάβης αποτελεί το κλειδί της προσβολής του τοιχώματος των εγκεφαλικών αγγείων, οδηγώντας σε οίδημα και αιμορραγία. Έχει περιγραφεί ότι τα ενδοθηλιακά κύτταρα εκκρίνουν MMPs οι οποίες διευκολύνουν της αποδόμηση της βασικής μεμβράνης.⁴³

Η πρωτεόλυση των στοιχείων της εξωκυτταρικής θεμέλιας ουσίας της βασικής μεμβράνης κάτω από το αγγειακό δίκτυο οδηγεί σε αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας και απώλεια της ακεραιότητας του αγγειακού τοιχώματος. Επιπλέον η αποδόμηση της βασικής στιβάδας των αγγείων καθιστά τα αγγεία πιο δεκτικά στην εξαγγείωση των ουδετεροφίλων μέσα στον εγκεφαλικό ιστό.⁴⁴

Μελέτες έχουν καταδείξει ότι οι MMPs συμβάλλουν στην μετανάστευση των ουδετεροφίλων από την περιφέρεια στον εγκεφαλικό ιστό. Η όψιμη έκφραση των MMPs μαζί με τα μακροφάγα πιθανόν σχετίζονται με την μετανάστευση των τελευταίων στην ισχαιμική περιοχή και δυνατόν να συμβάλλουν στην κάθαρση της περιοχής από τα κυτταρικά συντρίμματα κατά την φάση λύσης / ανάρρωσης από το ισχαιμικό επεισόδιο.⁴⁵

Αιμορραγική μετατροπή ισχαιμικού εμφράκτου και θρομβολυτική αγωγή

Η αιμορραγική μετατροπή αποτελεί μία όψιμη επιπλοκή της ισχαιμικής βλάβης, δυνατόν όμως να επισυμβεί και μετά από χορήγηση θρομβολυτικών παραγόντων στο πλαίσιο μιας θεραπευτικής στρατηγικής ελαχιστοποίησης των ισχαιμικών βλαβών. Η ενδοφλέβια χορήγηση ενεργοποιητή του πλασμινογόνου των ιστών (tissue Plasminogen Activator, t-PA) δυνατόν να είναι επωφελής στην αντιμετώπιση της ισχαιμικής εγκεφαλικής βλάβης όταν όμως χορηγηθεί στο πρώτο τρίωρο από την έναρξη των συμπτωμάτων. Παρά ταύτα, η θρομβόλυση δυνατόν να συσχετιστεί με αύξηση του κινδύνου εμφάνισης αιμορραγικής μετατροπής.⁴⁶

Οι παράγοντες που διέπουν αυτήν την επιπλοκή δεν απολύτως γνωστοί. Η θρομβολυτική δράση του συστήματος πλασμινογόνου-πλασμίνης πιθανόν οφείλεται στην εμπλοκή του συστήματος στην αποδόμηση της εξωκυτταρικής θεμέλιας ουσίας και στην ενεργοποίηση των MMPs. Έτσι ο t-PA πιθανόν να ισχυροποιεί την απώλεια συνοχής του αγγειακού τοιχώματος που παρατηρείται μετά από ισχαιμικό επεισόδιο ή στην φάση επαναιμάτωσης.^{47,48,49} Επιπλέον ο t-PA πιθανόν μεταβάλλει την λειτουργικότητα του ενδοθηλίου ελαττώνοντας την ανοσοδραστικότητα μορίων προσκόλλησης και άλλων παραγόντων φλεγμονής πάνω στα αγγεία της ισχαιμικής περιοχής, περιορίζοντας τον φλεγμονώδη καταρράκτη.⁵⁰

Πειραματικά μοντέλα έδειξαν ότι πειραματόζωα με ισχαιμικά έμφρακτα που υποβλήθηκαν σε καθυστερημένη θεραπευτική χορήγηση t-PA – περί την έκτη ώρα μετά την έναρξη των συμπτωμάτων – εμφάνισαν υψηλή θνησιμότητα. Η χορήγηση ενός αναστολέα της δράσης των MMPs – δύο με πέντε ώρες μετά την έναρξη των συμπτωμάτων – ελάττωσε σημαντικά την θνησιμότητα. Η δράση των αναστολέων των MMPs είναι προστατευτική στην διάσπαση του BBB που προκαλείται από τα αυξημένα επίπεδα των MMP-2 και MMP-9 που παρατηρούνται τις πρώτες 6 ώρες από την έναρξη των συμπτωμάτων και μία ώρα μετά την επαναιμάτωση. Κάτι τέτοιο υποδηλώνει συνδυασμένη δράση των MMPs και του t-PA στην πρώιμη δυσλειτουργία του αιματο-εγκεφαλικού φραγμού και στην πρόκληση της αιμορραγικής μετατροπής.²⁸

Επομένως η διάσπαση του αιματο-εγκεφαλικού φραγμού σε καθυστερημένη χορήγηση θρομβολυτικού παράγοντα μεσολαβείται από τις MMPs και επιτείνεται η εξαγγείωση που προκαλεί το t-PA αυξάνοντας έτσι την θνησιμότητα. Η θνησιμότητα θα μπορούσε να ελαττωθεί με την αναστολή της δράσης των MMPs – ακόμη και αν η θρομβόλυση αρχίσει πρώιμα. Η διατήρηση της ακεραιότητας του αγγειακού τοιχώματος με την χρήση αναστολέων των MMPs θα μπορούσε να συμβάλει στην αύξηση της ασφάλειας αλλά και της αποτελεσματικότητας της θρομβολυτικής θεραπείας.²⁸

Κλινικά ερευνητικά πρωτόκολλα έχουν εκπονηθεί στην προσπάθεια διευκρίνισης της δράσης των MMPs κατά την διάρκεια χορήγησης θρομβολυτικών παραγόντων. Ο Montaner και συν μελέτησαν ασθενείς

πάσχοντες από ισχαιμικά επεισόδια της μέσης εγκεφαλικής αρτηρίας στους οποίους χορηγήθηκε t-PA το πρώτο τρίωρο από την έναρξη των συμπτωμάτων. Τα αιμορραγικά συμβάντα διαπιστώθηκαν και μετρήθηκαν με την χρήση CT-scan. Καταδείχθηκε ότι τα χαμηλά επίπεδα MMPs προλαμβάνουν την αιμορραγική μετατροπή μετά από θεραπεία με t-PA.⁵¹

Η διευκρίνιση και η ταυτοποίηση των υποκείμενων μηχανισμών που είναι υπεύθυνοι για την αιμορραγική μετατροπή είναι υψίστης σημασίας για την βελτίωση του profil ασφαλείας των θρομβολυτικών παραγόντων που χρησιμοποιούνται στην θεραπεία των ισχαιμικών εγκεφαλικών επεισοδίων. Μια μελλοντική χρήση της συνδυασμένης θεραπείας με t-PA και αναστολέα των MMPs θα μπορούσε να οδηγήσει σε ασφαλέστερη και αποτελεσματικότερη αντιμετώπιση των ισχαιμικών εγκεφαλικών επεισοδίων.

Συμπέρασμα

Επομένως, οι MMPs θα μπορούσαν να αποτελέσουν έναν πολύ σημαντικό προγνωστικό δείκτη της έκτασης της ισχαιμικής βλάβης και της αιμορραγικής μετατροπής. Ελπιδοφόρα είναι τα μηνύματα της χρήσης των MMPs στο μέλλον και ως θεραπευτικού παράγοντα με την χρήση αναστολέων της δράσης τους, ούτως ώστε να μπορεί να περιοριστεί η ισχαιμική βλάβη, να ελαττωθεί η συχνότητα της αιμορραγικής μετατροπής αλλά και να χρησιμοποιηθεί σαν συμπληρωματικός θεραπευτικός παράγοντας αυξάνοντας την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια της σύγχρονης θρομβολυτικής αγωγής.

Οι MMPs αποτελούν σίγουρα ένα νέο, φιλόδοξο ερευνητικό πεδίο στην διερεύνηση των ΑΕΕ, χρειάζονται όμως ακόμη πολλές έρευνες μέχρι να ταυτοποιηθεί και να διευκρινιστεί πλήρως ο ρόλος που διαδραματίζουν.

ABSTRACT

Metalloproteinases as prognostic and diagnostic factors of cerebrovascular disease. A new therapeutic view

SYRIGOS D., PAPALIMNEOU V., AUGOUSTATOU K., PAPADIMITRIOU L., XANTHOS T.

Stroke is the second most common cause of death in the whole world after heart disease, and the leading cause of disability. Several studies are focused in discovering new diagnostic and/or prognostic biomarkers for stroke in purpose to alter the physical history and the outcome of cerebrovascular disease.

The use of new blood biomarkers is getting increasingly popular in the field of cerebrovascular diseases, since biomarkers might aid physicians in several steps of stroke evaluation. Matrix metalloproteinases are a family of proteinases which are involved in pathogenesis, diagnosis and prognosis on ischemic cerebral injury. The pathogenetic mechanisms induced by metalloproteinases are not fully elucidated. In the future the use of metalloproteinases may lead to more effective strategies for treating this worldwide health problem.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Adams HP. Stroke: a vascular pathology with inadequate management. *J Hypertens Suppl.* 2003; 21:S3-S7.
- Stoker W, Bode W. Structural features of a superfamily of zinc-endopeptidases: the metzincins. *Curr Opin Str Biol.* 1995; 5:383-390.
- Zucker S, Pei D, Cao J, Lopez-Otin C. Membrane type-matrix metalloproteinases (MT-MMP). in: *Cell Surface Proteases*. Eds. S. Zucker and W-T Chen. Academic Press. 2003; 1-74.
- Chang C, Werb Z. The many faces of metalloproteinases: cell growth, invasion, angiogenesis and metastasis. *Trends Cell Biol.* 2001; 11:S37-S43.
- Suzuki H, Kusuyama T, Sato R, Yokota Y, Tsunoda F, Sato T, Shoji M, Iso Y, Koba S, Katagiri T. Elevation of matrix metalloproteinases and interleukin-6 in the culprit coronary artery of myocardial infarction. *Eur J Clin Invest.* 2008; 38:166-73.
- Schmidt R, Bültmann A, Fischel S, Gillitzer A, Cullen P, Walch A, Jost P, Ungerer M, Tolley ND, Lindemann S, Gawaz M, Schömig A, May AE. Extracellular matrix metalloproteinase inducer (CD147) is a novel receptor on platelets, activates platelets, and augments nuclear factor kappaB-dependent inflammation in monocytes. *Circ Res.* 2008;102(3):302-309.
- Schmidt R, Bültmann A, Ungerer M, Joghetaei N, Bülbül O, Thieme S, Chavakis T, Toole BP, Gawaz M, Schömig A, May AE. Extracellular matrix metalloproteinase inducer regulates matrix metalloproteinase activity in cardiovascular cells: implications in acute myocardial infarction. *Circulation.* 2006; 113: 834-841.
- Tuomainen AM, Nyyssönen K, Laukkanen JA, Tervahartiala T, Tuomainen TP, Salonen JT, Sorsa T, Pussinen PJ. Serum matrix metalloproteinase-8 concentrations are associated with cardiovascular outcome in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007; 27:2722-8.
- Takai S, Jin D, Inagaki S, Yamamoto D, Tanaka K, Miyazaki M. Significance of matrix metalloproteinase-9 in cardiac dysfunction during the very acute phase after myocardial infarction in hamsters. *Eur J Pharmacol.* 2007; 572:57-60.
- Taurino M, Raffa S, Mastroddi M, Visco V, Rizzo L, Torrisi MR, Faraglia V. Metalloproteinase expression in carotid plaque and its correlation with plasma levels before and after carotid endarterectomy. *Vasc Endovascular Surg.* 2008; 41:516-521.
- Phatharajaree W, Phrommintikul A, Chattipakorn N. Matrix metalloproteinases and myocardial infarction. *Can J Cardiol.* 2007; 23:727-733.
- Creemers EE, Cleutjens JP, Smits JF, Daemen MJ. Matrix metalloproteinase inhibition after myocardial infarction: a new approach to prevent heart failure? *Circ Res.* 2001; 89:201-210.
- Poduval P, Sillat T, Beklen A, Kouri VP, Virtanen I, Kontinen YT. Type IV collagen alpha-chain composition in synovial lining from trauma patients and patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2007; 56:3959-3967.
- Rengel Y, Ospelt C, Gay S. Proteinases in the joint: clinical relevance of proteinases in joint destruction. *Arthritis Res Ther.* 2007; 9: 221.
- Overall CM, Lopez-Otin C. Strategies for MMP inhibition in cancer: innovations for the post-trial era. *Nature Reviews/Cancer.* 2002; 2:657-672.
- Gershtein ES, Korotkova EA, Shcherbakov AM, Prorokov VV, Golovkov DA, Kushlinskii NE. Matrix metalloproteinases 7 and 9 and their types 1 and 4 tissue inhibitors in tumors and plasma of patients with colorectal cancer. *Bull Exp Biol Med.* 2007; 14:4 59-62.
- Delektorskaya VV, Perevoshchikov AG, Golovkov DA, Kushlinskii NE. Prognostic significance of expression of matrix metalloproteinase in colorectal adenocarcinomas and their metastases. *Bull Exp Biol Med.* 2007; 143:455-458.
- Périgny M, Bairati I, Harvey I, Beauchemin M, Harel F, Plante M, Têtu B. Role of immunohistochemical overexpression of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-11 in the prognosis of death by ovarian cancer. *Am J Clin Pathol.* 2008; 129:226-231.
- Shi-ichi Manabe, Zezong Gu, Stuart A. Lipton. Activation of matrix metalloproteinase -9 via neuronal nitric oxide synthase contributes

- to NMDA - induced retinal ganglion cell death. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 2005; 46:4747-4753.
20. Bahr M. Live or let die—retinal ganglion cell death and survival during development and in the lesioned adult CNS. *Trends Neurosci*. 2000; 23:483-490.
 21. Flex A, Gaetani E, Proia AS, Pecorini G, Straface G, Biscetti F, Fioroni G, Sabusco A, Flore R, Tondi P, Pola P, Pola R. Analysis of functional polymorphisms of metalloproteinase genes in persons with vascular dementia and Alzheimer's disease. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2006; 61:1065-1069.
 22. White AR, Du T, Laughton KM, Volitakis I, Sharples RA, Xilinas ME, Hoke DE, Holsinger RM, Evin G, Cherny RA, Hill AF, Barnham KJ, Li QX, Bush AI, Masters CL. Degradation of the Alzheimer disease amyloid beta-peptide by metal-dependent up-regulation of metalloproteinase activity. *J Biol Chem*. 2006; 281:17670-17680.
 23. Okamoto M, Wang X, Baba M. HIV-1-infected macrophages induce astrogliosis by SDF-1 α and matrix metalloproteinases. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005; 336:1214-20.
 24. Ghorpade A, Persidskaia R, Suryadevara R, Che M, Liu XJ, Persidsky Y, Gendelman HE. Mononuclear phagocyte differentiation, activation, and viral infection regulate matrix metalloproteinase expression: implications for human immunodeficiency virus type 1-associated dementia. *J Virol*. 2001; 75:6572-83.
 25. Liuzzi GM, Latronico T, Rossano R, Viggiani S, Fasano A, Riccio P. Inhibitory effect of polyunsaturated fatty acids on MMP-9 release from microglial cells—implications for complementary multiple sclerosis treatment. *Neurochem Res*. 2007; 32:2184-93.
 26. Yong VW, Zabad RK, Agrawal S, Goncalves Dasilva A, Metz LM. Elevation of matrix metalloproteinases (MMPs) in multiple sclerosis and impact of immunomodulators. *J Neurol Sci*. 2007; 259:79-84.
 27. Rosell A, Ortega-Aznar A, Alvarez-Sabin J, Fernández-Cadenas I, Ribó M, Molina CA, Lo EH, Montaner J. Increased Brain Expression of Matrix Metalloproteinase-9 After Ischemic and Hemorrhagic Human Stroke. *Stroke*. 2006; 37:1399.
 28. Pfefferkorn T, Rosenberg GA. Closure of the Blood-Brain Barrier by Matrix Metalloproteinase Inhibition Reduces rtPA-Mediated Mortality in Cerebral Ischemia With Delayed Reperfusion. *Stroke*. 2003; 34:2025-2030.
 29. Kelly P, Morrow J, Ning M, Koroshetz W, Lo E, Terry E, Milne G, Hubbard J, Lee H, Stevenson E, Lederer M, Furie K. Oxidative stress and matrix metalloproteinase-9 in acute ischemic stroke: The biomarker evaluation for antioxidant therapies in stroke (BEAT-Stroke) study. *Stroke*. 2008; 39:100-104.
 30. Romanic AM, White RF, Arleth AJ, Ohlstein EH, Barone FC. Matrix metalloproteinase expression increases after cerebral focal ischemia in rats: inhibition of matrix metalloproteinase-9 reduces infarct size. *Stroke*. 1998; 29:1020-1030.
 31. Beyer EC. Gap junctions. *Int Rev Cytol*. 1993; 139C : 1-37.
 32. Heo JH, Lucero J, Abumiya T, Koziol JA, Copeland BR, del Zoppo GJ. Matrix metalloproteinases increase very early during experimental focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1999; 19:624-633.
 33. Rosenberg GA, Mun-Bryce S, Wesley M, Kornfeld M. Collagenase induced intracerebral hemorrhage in the rat. *Stroke*. 1990; 21:801-807.
 34. Rosenberg GA, Mun-Bryce S. Matrix metalloproteinases in neuroinflammation and cerebral ischemia. *Ernst Scherlin Res Found Workshop*. 2004; 47:1-16.
 35. Mun-Bryce S, Rosenberg GA. Matrix metalloproteinases in cerebrovascular disease. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1998; 18:1163-1172.
 36. Gasche Y, Fujimura M, Morita-Fujimura Y, Copin JC, Kawase M, Massengale J, Chan PH. Early appearance of activated matrix metalloproteinase-9 after focal cerebral ischemia in mice: a possible role in blood-brain barrier dysfunction. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1999; 19:1020-1028.
 37. Aoki T, Sumii T, Mori T, Wang X, Lo EH. Blood-brain barrier disruption and matrix metalloproteinase-9 expression during reperfusion injury: mechanical versus embolic focal ischemia in spontaneously hypertensive rats. *Stroke*. 2002; 33:2711-2717.
 38. Rosell A, Alvarez-Sabin J, Arenillas J, Rovira A, Delgado P, Fernández-Cadenas I, Penalba A, Molina C. A matrix metalloproteinase protein array reveals a strong relation between MMP-9 and MMP-13 with diffusion-weighted image lesion increase in human stroke. *Stroke*. 2005; 36:1415-1420.
 39. Asahi M, Asahi K, Jung JC, del Zoppo GJ, Fini ME, Lo EH. Role for matrix metalloproteinase 9 after focal cerebral ischemia: effects of gene knockout and enzyme inhibition with BB-94. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2000; 20 :1681-1689.
 40. Heo JH, Lucero J, Abumiya T, Koziol JA, Copeland BR, del Zoppo GJ. Matrix metalloproteinases increase very early during experimental focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab*. 1999; 19: 624-633.
 41. Krizanac-Bengez L, Hossain M, Fazio V, Mayberg M, Janigro D. Loss of flow induces leukocyte-mediated MMP/TIMP imbalance in dynamic in vitro blood-brain barrier model: role of pro-inflammatory cytokines. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2006; 291 :C740-C749.
 42. Rosenberg GA, Kornfeld M, Estrada E, Kelly RO, Liotta LA, Stetler-Stevenson WG. TIMP-2 reduces proteolytic opening of blood-brain barrier by type IV collagenase. *Brain Res*. 1992; 576 : 203-207.
 43. Unemori EN, Bouhana KS, Werb Z. Vectorial secretion of extracellular matrix proteins, matrix-degrading proteinases, and tissue inhibitor of metalloproteinases by endothelial cells. *J Biol Chem*. 1990; 265: 445-51.
 44. Hamann GF, Okada Y, Fritridge R, del Zoppo GJ. Microvascular basal lamina antigens disappear during cerebral ischemia and reperfusion. *Stroke*. 1995; 26 : 2120-2126.
 45. Clark RK, Lee EV, Fish CJ, White RF, Price WJ, Jonak ZL, Feuerstein GZ, Barone FC. Development of tissue damage, inflammation and resolution following stroke: an immunohistochemical and quantitative planimetric study. *Brain Res Bull*. 1993; 31 : 565-572.
 46. The National Institutes of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group. Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. *N Engl J Med*. 1995; 333 : 1581-1587.
 47. Liotta LA, Goldfarb RH, Brundage R, et al. Effect of plasminogen activator (urokinase), plasmin, and thrombin on glycoprotein and collagenous components of basement membrane. *Cancer Res*. 1981; 41: 4629-4636.
 48. Lijnen HR, Silence J, Lemmens G, et al. Regulation of gelatinase activity in mice with targeted inactivation of components of the plasminogen/plasmin system. *Thromb Haemost*. 1998; 79: 1171-1176.
 49. Hamann GF, Liebetrau M, Martens H, et al. Microvascular basal lamina injury after experimental focal cerebral ischemia and reperfusion in the rat. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2002; 22: 526-533.
 50. Zhang RL, Zhang ZG, Chopp M. Thrombolysis with tissue plasminogen activator alters adhesion molecule expression in the ischemic rat brain. *Stroke*. 1999; 30: 624-629.
 51. Montaner J, Molina CA, Monasterio J, Abilleira S, Arenillas JF, Ribó M, Quintana M, Alvarez-Sabin J. Matrix Metalloproteinase-9 pretreatment level predicts intracranial hemorrhagic complications after thrombolysis in human stroke. *Circulation*. 2003; 107: 598-603.

