



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ-ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΔΕΡΜΑΤΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ: ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΑΝΔΡΟΝΙΚΗ ΤΟΣΚΑ

Η ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗ ΣΤΗΝ ΨΩΡΙΑΣΗ
Η ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΤΩΝ ΝΕΟΔΜΗΤΩΝ ΑΓΓΕΙΩΝ ΠΡΙΝ
ΚΑΙ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΥΣ
ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΤΕΣ

ΑΒΡΑΜΙΔΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ
Δερματολόγος – Αφροδισιολόγος

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2010

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1.Ανδρονίκη Τόσκα : Καθηγήτρια Δερματολογίας Πανεπιστημίου Κρήτης (Επιβλέπουσα Καθηγήτρια)

2.Σαμπίνε Κρύγκερ-Κρασαγάκη: Επίκ. Καθηγήτρια Δερματολογίας Πανεπιστημίου Κρήτης

3.Σταθόπουλος Ευστάθιος: Αναπλ. Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής Πανεπιστημίου Κρήτης

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1.Ανδρονίκη Τόσκα: Καθηγήτρια Δερματολογίας Πανεπιστημίου Κρήτης

2.Σαμπίνε Κρύγκερ-Κρασαγάκη: Επίκ. Καθηγήτρια Δερματολογίας Πανεπιστημίου Κρήτης

3.Σταθόπουλος Ευστάθιος: Αναπλ Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής Πανεπιστημίου Κρήτης

4.Κουρούμαλης Ηλίας : Καθηγητής Γαστρεντερολογίας Πανεπιστημίου Κρήτης

5.Λιονής Χρήστος : Καθηγητής Γενικής Ιατρικής Πανεπιστημίου Κρήτης

6.Κωνσταντίνος Κρασαγάκης : Αναπλ Καθηγητής Δερματολογίας Πανεπιστημίου Κρήτης

7.Γανωτάκης Εμμανουήλ : Αναπλ. Καθηγητής Παθολογίας Πανεπιστημίου Κρήτης

Στους γονείς, τον παππού και την αδελφή μου

**Στην καθηγήτριά μου
κ. Ανδρονίκη Τόσκα**

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΑΝΤΙ ΠΡΟΛΟΓΟΥ	ix
I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	1
<u>1. ΨΩΡΙΑΣΗ</u>	2
<u>1.1 ΟΡΙΣΜΟΣ-ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ</u>	2
<u>1.2 ΓΕΝΕΤΙΚΗ</u>	2
<u>1.3 ΕΚΛΥΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ</u>	3
1.3.1. Φαινόμενο Köebner	3
1.3.2 Φάρμακα	4
1.3.3 Λοιμώξεις	4
1.3.4 Ψυχογενείς παράγοντες	4
1.3.5 Ενδοκρινικοί-Μεταβολικοί παράγοντες	5
<u>1.4 ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ</u>	5
1.4.1 Κοινή κατά πλάκες ψωρίαση	5
1.4.2. Ερυθροδερμική ψωρίαση	6
1.4.3. Σταγονοειδής ψωρίαση	7
1.4.4. Φλυκταινώδης ψωρίαση	7
1.4.5. Περιοχική ψωρίαση	9
<u>1.5 ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑ</u>	12
<u>1.6 ΑΙΤΙΟΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ</u>	13
<u>1.7 ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΨΩΡΙΑΣΗΣ</u>	14
2. ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗ	16
<u>2.1 ΟΡΙΣΜΟΣ, ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΙ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗ</u>	16
<u>2.2 Η ΘΕΩΡΙΑ ΙΣΟΡΡΟΠΙΑΣ</u>	16
2.2.1. Αγγειογενετικοί παράγοντες	17
2.2.2. Αντιαγγειογενετικοί παράγοντες	19
<u>2.3 Ο ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗΣ</u>	20
<u>2.4 Η ΑΓΓΕΙΟΒΡΙΘΕΙΑ ΤΟΥ ΘΗΛΩΔΟΥΣ ΧΟΡΙΟΥ ΣΤΗΝ ΨΩΡΙΑΣΗ</u>	21
3. ΑΠΟΠΤΩΣΗ	23

<u>3.1 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ</u>	23
<u>3.2 ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ</u>	24
<u>3.3 ΤΑ ΓΟΝΙΔΙΑ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ</u>	25
<u>3.4 ΘΕΤΙΚΗ ΚΑΙ ΑΡΝΗΤΙΚΗ ΕΠΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ</u>	27
<u>3.5 ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΘΑΝΑΤΟΥ (DEATH RECEPTORS)</u>	28
<u>3.6 ΚΑΣΠΑΣΕΣ ΚΑΙ ΑΠΟΠΤΩΣΗ</u>	30
II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	32
1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	33
2. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ	34
<u>2.1 ΥΛΙΚΟ</u>	34
<u>2.2 ΜΕΘΟΔΟΣ</u>	35
2.2.1 Υπολογισμός του δείκτη βαρύτητας και εκτάσεως της νόσου PASI (Psoriasis Area and Severity Index)	35
2.2.2 Ιστολογική και ανοσοϊστοχημική χρώση.....	36
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	41
<u>3.1 ΚΛΙΝΙΚΑ</u>	41
3.1.1 Αποτελεσματικότητα.....	41
3.1.2. Ανεπιθύμητες ενέργειες.....	42
<u>3.2 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ</u>	42
<u>3.3 ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΑ</u>	42
3.3.1 Ομάδα Α	42
3.3.2 Ομάδα Β	44
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	46
5. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	51
6. SUMMARY	60
7. ΠΙΝΑΚΕΣ	62
8. ΣΧΗΜΑΤΑ	69
9. ΕΙΚΟΝΕΣ	79
10.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	92

ΑΝΤΙ ΠΡΟΛΟΓΟΥ

Στο πλαίσιο της εκστρατείας «Ψωρίαση: η γυμνή αλήθεια», 19 ασθενείς με ψωρίαση συγκεντρώθηκαν από όλο τον κόσμο με στόχο να πείσουν τους συνανθρώπους τους να δουν πέρα από το δέρμα και την ασθένειά τους. Το αποτέλεσμα είναι η έκθεση «Ψωρίαση: η γυμνή αλήθεια», ένα σύνολο πορτρέτων που εμπνέουν και αποκαλύπτουν τις προκλήσεις και τις νίκες των ασθενών με ψωρίαση. Η Dalila Sid-Mihand από τη Γαλλία, που συμμετείχε στη φωτογράφιση, εξομολογείται: «Εμφάνισα ψωρίαση στην ηλικία των 12 ετών. Ήταν πολύ δύσκολο για μένα. Έλεγα ψέματα ότι έχω έκζεμα γιατί ήταν περισσότερο γνωστό και άρα λιγότερο ανησυχητικό. Σήμερα πλέον έχω βρει μια θεραπεία που έχει αποτέλεσμα και έχω μια καλή ποιότητα ζωής. Θέλω να πω στον κόσμο να δείχνει κατανόηση σε εμάς τους ασθενείς και να μας αφήσει να ζήσουμε μια φυσιολογική ζωή χωρίς να μας κρίνει άδικα ή σκληρά απλά επειδή έχουμε μια ορατή ασθένεια». Αν και έχουν περάσει χιλιάδες χρόνια από τότε που η ψωρίαση αναγνωρίστηκε και καταγράφηκε ως ξεχωριστή νοσολογική οντότητα, παραμένει ακόμη μία ανίατη νόσος. Η παρούσα μελέτη πιστεύουμε να έβαλε ένα λιθαράκι στην προσπάθεια της παγκόσμιας δερματολογικής κοινότητας να γίνει η ψωρίαση ιάσιμη και «αόρατη» όχι μόνο στο βλέμμα της νεαρής γαλλίδας αλλά και στην ψυχή των εκατομμυρίων ψωριασικών ανά τον κόσμο που διψούν για μόνιμη θεραπεία.

Στο σημείο αυτό θέλω να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στην καθηγήτριά μου κ. Ανδρονίκη Τόσκα που όχι μόνο με ενθάρρυνε και με καθοδηγούσε κατά την διεξαγωγή της μελέτης που μου εμπιστεύθηκε αλλά και για την μεγάλη αγάπη που μου ενέπνευσε προς το αντικείμενο της Δερματολογίας και για το συνεχές και αμέριστο ενδιαφέρον με το οποίο με περιέβαλλε σε όλη την διάρκεια της ειδικότητάς

μου μέχρι και σήμερα. Θεωρώ τον εαυτό μου τυχερό που έβαλα τα θεμέλια της δερματολογικής μου πορείας κοντά της.

Θερμές ευχαριστίες εκφράζω προς την Επίκ. Καθηγήτρια κ. Κρύγκερ-Κρασαγάκη για την συμπαράσταση και τις συμβουλές της κατά την διεξαγωγή της μελέτης αλλά και το ότι με ξεχώρισε πολύ νωρίς και υποστήριξε θερμά την έναρξη της διδακτορικής αυτής διατριβής.

Ευχαριστώ θερμά τον Αναπλ. Καθηγητή κ. Ευστάθιο Σταθόπουλο ο οποίος μου παρείχε πολύτιμη βοήθεια προσφέροντάς μου τις γνώσεις του αλλά και συχνά στέγη στο εργαστήριο Παθολογοανατομίας, όπου κατέστη δυνατή η διεξαγωγή του ειδικού μέρους αυτής της διατριβής.

Ευχαριστώ επίσης, τα μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής Καθηγητή κ. Ηλία Κουρούμαλη, τον Καθηγητή κ. Χρήστο Λιονή και τον Αναπλ. Καθηγητή κ. Εμμανουήλ Γανωτάκη.

Για την πολύτιμη βοήθεια και την άοκνη καθοδήγησή του αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον Αναπλ. Καθηγητή και μέλος της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής κ. Κωνσταντίνο Κρασαγάκη ο οποίος με συγκινητικό ενδιαφέρον συνέβαλε τα μέγιστα για την εκπόνηση του συγγραφικού μέρους της εργασίας αυτής αλλά και την στατιστική ανάλυση των ευρημάτων.

I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΨΩΡΙΑΣΗ

1.1 ΟΡΙΣΜΟΣ-ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Η ψωρίαση είναι μια χρόνια αυτοάνοση φλεγμονώδης νόσος, η οποία προσβάλλει κυρίως το δέρμα και τα εξαρτήματά του. Κλινικά χαρακτηρίζεται από την εμφάνιση σαφώς αφοριζόμενων ερυθματολεπιδωδών πλακών (Krueger et al. 2005) . Στην Ευρώπη και Βόρειο Αμερική η συχνότητα της ψωρίασεως στο γενικό πληθυσμό υπολογίζεται σε περίπου 2%. Είναι ασυνήθης η εμφάνισή της στη μαύρη και κίτρινη φυλή, ενώ πολύ σπάνια εμφανίζεται στους Εσκιμώους και Ινδιάνους της Αμερικής (Gudjonsson et al. 2007) . Προσβάλλει και τα δύο φύλα με την ίδια περίπου συχνότητα. Αν και η ψωρίαση μπορεί να εκδηλωθεί σε οποιαδήποτε ηλικία, οι περισσότεροι ασθενείς εμφανίζουν για πρώτη φορά τις χαρακτηριστικές ψωριασικές αλλοιώσεις στην 3η δεκαετία της ζωής. Μπορεί να εμφανιστεί στην ηλικία των 16-24 ετών με οικογενή χαρακτήρα, υψηλή συχνότητα HLA και δυσμενέστερη πορεία ενώ όταν πρωτοεμφανίζεται σε μεγαλύτερες ηλικίες 50-60 ετών δεν έχει οικογενή χαρακτήρα αλλά ούτε μεγάλη συχνότητα HLA δεικτών καθώς και ηπιότερη κλινική πορεία (Griffiths et al. 2007).

1.2 ΓΕΝΕΤΙΚΗ

Ο πολυπαραγοντικός και συστηματικός χαρακτήρας, καθώς και το ισχυρό γενετικό υπόβαθρο της νόσου είναι τα τρία θέματα που έχουν απασχολήσει ιδιαίτερα τη δερματολογική κοινότητα τις τελευταίες δεκαετίες. Ποικίλοι περιβαλλοντικοί παράγοντες, όπως το stress, το κάπνισμα και οι λοιμώξεις, έχουν ενοχοποιηθεί για συμμετοχή στην παθογένεση της νόσου. Το ενδιαφέρον της ερευνητικής κοινότητας ωστόσο, στρέφεται το τελευταίο διάστημα στην ισχυρή γενετική προδιάθεση της

νόσου, η οποία ενισχύεται από μελέτες που αποκαλύπτουν συνύπαρξη της νόσου στο 67% των μονοζυγωτικών διδύμων έναντι μόλις 18% των διζυγωτικών. Η επιστήμη της γενετικής έχει αναδείξει, κατά τη διάρκεια της τελευταίας δεκαετίας, συγκεκριμένα γονίδια τα οποία συμμετέχουν στον παθογενετικό μηχανισμό και την έκφραση της νόσου (Εικ. 1). Οι Tomhfhrde et al. ξεκίνησαν το 1994 με την ανίχνευση του πρώτου γονιδιακού επιτόπου στο χρωμόσωμα 6 (6p21.3), το οποίο εδράζεται στην περιοχή του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC-major histocompatibility complex) και ονομάστηκε PSORS1. Το γονίδιο αυτό μελετήθηκε ιδιαίτερα και ακολούθησαν οι γονιδιακοί επίτοποι PSORS2 (Tomhfhrde et al. 1994), PSORS3 (Mathews et al. 1996), PSORS4 (Bhalerhao and Bowcock, 1998), PSORS5 (Samuelson et al., Enlund et al. 1999), μέχρι το γονιδιακό επίτοπο PSORS9, καθώς και αρκετοί άλλοι (Πίν. 1). Ανιχνεύτηκαν επίσης και γονίδια τα οποία συνδέονται με την εμφάνιση της ψωριασικής αρθρίτιδας, όπως π.χ. το γονίδιο PSORS1(Bos D J 2007) (Bowcock M A 2004).

1.3 ΕΚΛΥΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Διάφοροι παράγοντες μπορούν να προκαλέσουν την έκλυση των ψωριασικών βλαβών η ακόμη και την επιδείνωση των ήδη υφισταμένων αλλά και την μετάπτωση της μιας μορφής της νόσου σε άλλη.

1.3.1. Φαινόμενο Köebner

Ο Köebner το 1876 παρατήρησε την εμφάνιση ψωριασικών βλαβών στις θέσεις ήπιου τραυματισμού του φαινομενικά υγιούς δέρματος ασθενών με ψωρίαση. Το φαινόμενο Köebner, δεν είναι ειδικό μόνο για την ψωρίαση αλλά εμφανίζεται στην

λεύκη, μυρμηκίες, ομαλό λειχήνα, μολυσματική τέρμινθο και άλλες δερματολογικές παθήσεις. Κατά την λύση της συνέχειας της επιδερμίδας και του χορίου (Powles et al. 1990), πραγματοποιείται απελευθέρωση κυτταροκινών και ενεργοποίηση των T-λεμφοκυττάρων.

1.3.2 Φάρμακα

Αρκετά φαρμακευτικά σκευάσματα χορηγούμενα συστηματικώς μπορούν να προκαλέσουν την έκλυση ή την επιδείνωση υπάρχουσας ψωριάσης: Λίθιο, β-blockers, ανθελονοσιακά, κορτικοστεροειδή, μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη, αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγιοτενσίνης, τετρακυκλίνες κ.α. (Barker 1991).

1.3.3 Λοιμώξεις

Διάφορες λοιμώξεις προκαλούν ή επιδεινώνουν τη νόσο. Η σχέση της στρεπτοκοκκικής λοίμωξης με την εμφάνιση οξείας σταγονοειδούς ψωριάσεως έχει τεκμηριωθεί σε μεγάλες κλινικές μελέτες (Telfer et al. 1992, Gudjonsson et al. 2003). Έχει μελετηθεί επίσης ότι βακτηριακές τοξίνες που δρουν ως υπεραντιγόνα μετέχουν στους μηχανισμούς ενεργοποίησης των πρωτογενών κυττάρων-στόχων στην ψωρίαση (Leung et al. 1995).

1.3.4 Ψυχογενείς παράγοντες

Το έντονο ψυχικό stress μπορεί να προκαλέσει επιδείνωση της ψωριάσης σε ποσοστό 66%-71% των ασθενών, ενώ σε ποσοστό 35% η νόσος εκδηλώνεται σε περιόδους ψυχικής φόρτισης και έντονου άγχους (Zachariae et al. 2004). Το φαινόμενο αυτό οφείλεται στις προκαλούμενες μεταβολές στην λειτουργία του νευρικού, του

ενδοκρινικού και του ανοσολογικού συστήματος όπως διαταραχές της ανοσολογικής κατάστασης και έκκριση νευροπεπτιδίων από τις νευρικές απολήξεις του δέρματος (Schmid-Ott et al. 1998, Weigl 2000).

1.3.5 Ενδοκρινικοί και μεταβολικοί παράγοντες

Η μερική ή ολική υποχώρηση της νόσου κατά την εγκυμοσύνη καθώς και μετά την χορήγηση ανταγωνιστών της αυξητικής ορμόνης όπως η σωματοστατίνη, αποτελούν σαφείς ενδείξεις συμμετοχής των ορμονών στην ψωρίαση (Dunna & Finlay 1989, Camisa et al. 1989). Η υπασβεστιαμία, που παρατηρείται στον υποπαραθυρεοειδισμό, επίσης μπορεί να προκαλέσει έκλυση ή επιδείνωση της ψωρίασης (Kawamura et al. 1999).

1.4 ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

1.4.1 Κοινή κατά πλάκες ψωρίαση

Αποτελεί τον συχνότερο τύπο ψωρίασης που φτάνει το 90% των περιπτώσεων. Η στοιχειώδης βλάβη έχει τα εξής χαρακτηριστικά: 1) σαφώς αφοριζόμενη και επηρμένη πλάκα λόγω της υπερπλασίας της επιδερμίδας 2) καλύπτεται από παχιά αργυρόχροα, χαλαρώς προσκολλημένα λέπια λόγω της ανώμαλης κερατινοποίησης 3) έντονα ερυθρό χρώμα, λόγω του διευρυσμένου τριχοειδικού δικτύου. Το μέγεθος της βλάβης ποικίλλει, ενώ το σχήμα της είναι συνήθως κυκλικό, ωοειδές ή ακανόνιστο (Εικ.2).

Μικρές πλάκες μπορούν να συνενώνονται και να σχηματίζουν μεγαλύτερες πλάκες που καλύπτουν μεγάλη επιφάνεια του σώματος. Η πιο συνηθισμένη εντόπιση της ψωρίασης είναι στις εκτατικές επιφάνειες των αγκώνων και των γονάτων, πιθανόν λόγω της συνεχούς τριβής και του τραυματισμού του δέρματος στα σημεία αυτά, το

τριχωτό της κεφαλής, την οσφυοϊερή και την περιομφαλική χώρα. Από άποψη συμπτωματολογίας, η κοινή κατά πλάκες ψωρίαση είναι συνήθως ασυμπτωματική αλλά σε ορισμένες περιπτώσεις συνοδεύεται από άλγος ή κνησμό. Οι βλάβες της κοινής ψωρίασης επιμένουν συνήθως για μεγάλο χρονικό διάστημα με ελάχιστες μορφολογικές αλλαγές και τάση επέκτασης. Όχι σπάνια, μπορεί να παρατηρηθεί απότομη εμφάνιση διάσπαρτων μικρών και μεγάλων πλακών (εξανθηματική μορφή), πολλαπλών φλυκταινωδών βλαβών (φλυκταινώδης ψωρίαση) ή καθολική ερυθρότητα και απολέπιση του δέρματος (ερυθροδερμική ψωρίαση).

Παρατηρούνται τρία κλινικά σημεία με ιδιαίτερη διαγνωστική σημασία α) Το σημείο της αιματηράς δρόσου που αναφέρεται στην εμφάνιση στικτής αιμορραγίας μετά την απομάκρυνση των λεπιών από την επιφάνεια της πλάκας και οφείλεται στον τραυματισμό των διατεταμένων επιφανειακών τριχοειδών β) το σημείο στεατοκηρίου που η μηχανική απομάκρυνση των λεπιών συμβαίνει με την μορφή μικρών λευκών κομματιών σαν από κερί γ) το φαινόμενο Köebner ή ισομορφικό φαινόμενο. που χαρακτηρίζεται από την εμφάνιση ψωριασικής βλάβης σε κλινικά υγιές δέρμα μετά από ήπιο τραυματισμό.

1.4.2. Ερυθροδερμική ψωρίαση

Η ερυθροδερμική ψωρίαση αποτελεί μια σοβαρή μορφή της ψωρίασης που χαρακτηρίζεται από καθολική φλεγμονή με έντονη ερυθρότητα και απολέπιση. Η διάχυτη δερματική φλεγμονή μπορεί να οδηγήσει σε παροδική αλωπεκία ή σοβαρές διαταραχές ανάπτυξης των ονύχων. Η ερυθροδερμική ψωρίαση μπορεί να εμφανισθεί εν αιθρία ή να αποτελεί την ακραία μορφή επιδείνωσης μιας προϋπάρχουσας χρόνιας κοινής ή φλυκταινώδους ψωρίασης. Εμφανίζεται συνήθως σε νέα ή μέσης ηλικίας άτομα, αλλά μπορεί να εκδηλωθεί σε κάθε ηλικία. Εκλυτικοί παράγοντες θεωρούνται

η απότομη διακοπή τοπικών ή συστηματικών κορτικοειδών, κάποια ερεθιστική τοπική θεραπεία ή έγκαυμα από υπεριώδη ακτινοβολία, αντίδραση σε φάρμακο, λοιμώξεις, HIV κ.α. Η γενική κατάσταση του ασθενούς είναι κακή με υψηλό πυρετό και ρίγη, κακουχία, οιδήματα κάτω άκρων και διαταραχές της θερμορύθμισης και των ηλεκτρολυτών. Λόγω της εκτεταμένης αγγειοδιαστολής οι ασθενείς έχουν σημαντική απώλεια θερμοκρασίας, υποθερμία και ενδεχόμενη επιβάρυνση της καρδιακής λειτουργίας. Συνοδεύεται από υψηλή θνησιμότητα πριν η νεότερη θεραπευτική προσέγγιση να αποβεί σωτήρια (Εικ.2).

1.4.3. Σταγονοειδής ψωρίαση

Εμφανίζεται αιφνίδια στα παιδιά και σε νεαρούς ενήλικες συνήθως μετά από στρεπτοκοκκική λοίμωξη, ανεξάρτητα από τη λήψη ή μη αντιβιοτικής αγωγής. Χαρακτηρίζεται από μικρές σταγονοειδείς βλατίδες ή πλάκες εντοπιζόμενες κυρίως στον κορμό. Οι βλάβες συνήθως υποχωρούν αυτόματα μέσα σε 2-3 μήνες. Σε σπάνιες περιπτώσεις μεταπίπτουν σταδιακά στη χρόνια κοινή ψωρίαση. Μερικές φορές ασθενείς με χρόνια κατά πλάκες ψωρίαση εμφανίζουν τυπική σταγονοειδή ψωρίαση (Εικ.3).

1.4.4. Φλυκταινώδης ψωρίαση

Η φλυκταινώδης ψωρίαση χαρακτηρίζεται από το σχηματισμό φλυκταινών λόγω αθρόας συνάθροισης πολυμορφοπύρηνων στην επιδερμίδα. Υπάρχουν δύο τύποι φλυκταινώδους ψωρίασης: α) φλυκταινώδης ψωρίαση παλαμών/πελμάτων, β) η γενικευμένη φλυκταινώδης ψωρίαση.

Φλυκταινώδης ψωρίαση παλαμών / πελμάτων

Στην φλυκταινώδη ψωρίαση παλαμών /πελμάτων η στοιχειώδης βλάβη είναι η επιπόλης φλύκταινα. Οι φλύκταινες είναι στείρες μικροβίων και εμφανίζονται συνήθως πάνω σε ερυθματώδεις πλάκες σαφώς περιγεγραμμένες. Μπορεί να συνδυάζεται με την παρουσία ψωριασικών βλαβών σε άλλα σημεία του σώματος ή να αποτελεί τη μόνη εκδήλωση της νόσου. Στα χέρια οι βλάβες εμφανίζονται αρχικά στην περιοχή του θέναρος και σιγά-σιγά επεκτείνονται για να καταλάβουν την κεντρική μοίρα της παλάμης και σε ορισμένες-περιπτώσεις, τις ραχιαίες και πλάγιες επιφάνειες των δακτύλων. Στα πόδια οι βλάβες πρωτοεμφανίζονται στις καμάρες και τις πτέρνες και επεκτείνονται σταδιακά στις υπόλοιπες περιοχές των πελμάτων. Οι φλύκταινες περιέχουν άσηπτο πυώδες υγρό το οποίο μετά 7-10 ημέρες αποξηραίνεται δημιουργώντας μία κιτρινόφαιη ή καφεοειδή εφελκίδα. Σε ορισμένες περιπτώσεις το εξάνθημα μπορεί να γενικευθεί και να μετατραπεί σε γενικευμένη φλυκταινώδη ψωρίαση. Λόγω της ιδιομορφίας και του πάχους του δέρματος στις προσβεβλημένες περιοχές, η θεραπευτική αντιμετώπιση με τοπικά μέσα είναι δύσκολη και απαιτείται συνήθως συστηματική θεραπεία (Εικ.3).

Γενικευμένη φλυκταινώδης ψωρίαση

Είναι μια πολύ σπάνια και βαριά νόσος με δυνητικά μοιραία κατάληξη. Η γενική κατάσταση του ασθενούς επιβαρύνεται με υψηλό πυρετό, καταβολή δυνάμεων και εμφάνιση ερυθματωδών πλακών μεγάλης διαμέτρου σε υγιές δέρμα ή σε προϋπάρχουσες πλάκες κοινής ψωρίασης. Έχουν έντονα ερυθρά απόχρωση, είναι ελαφρά οίδηματώδεις, με ελάχιστη ή καθόλου απολέπιση. Οι βλάβες μπορεί να επεκταθούν σε όλη την επιφάνεια του σώματος και να διαμορφώσουν εικόνα εκτεταμένης ερυθροδερμίας. Τα αίτιά της είναι ασαφή, αν και στις περισσότερες περιπτώσεις οφείλεται σε ακατάλληλη θεραπευτική αγωγή. Η απότομη διακοπή συστηματικών κορτικοστεροειδών που χορηγήθηκαν για άλλη συνυπάρχουσα νόσο, η

εφαρμογή τοξικής ή ερεθιστικής τοπικής θεραπείας σε προϋπάρχουσες βλάβες ψωρίασης καθώς και η απότομη διακοπή χρονίως χορηγούμενων ισχυρών τοπικών κορτικοστεροειδών αποτελούν ορισμένους από τους συχνότερους εκλυτικούς παράγοντες. Λιγότερο συχνά αίτια αποτελούν η κύηση, η χρήση αντισυλληπτικών, η χορήγηση λιθίου ή άλλων εκλυτικών φαρμάκων, καθώς και ορισμένες λοιμώξεις και μεταβολικές διαταραχές. Σε ορισμένες περιοχές, οι φλύκταινες συνενώνονται σε μεγαλύτερους πυώδεις σχηματισμούς σχηματίζοντας «λίμνες πύου». Το εξάνθημα προσβάλλει ιδιαίτερα τις πτυχές του σώματος καθώς και τη γεννητική και περιγεννητική περιοχή. Ο στοματικός βλεννογόνος προσβάλλεται από κυκλικές και ημικυκλικές λευκοκίτρινες πλάκες, ενώ η συσσώρευση πύου κάτω από τα νύχια μπορεί να οδηγήσει σε αποκόλλησή τους. Συστηματικές επιπλοκές όπως αφυδάτωση, ηλεκτρολυτικές διαταραχές, υπασβεστιαϊμία, υπολευκωματιναιμία, καρδιακή ανεπάρκεια, ηπατική δυσλειτουργία, οξεία νεφρική σωληναριακή νέκρωση και δευτεροπαθείς βακτηριακές λοιμώξεις, θέτουν σε άμεσο κίνδυνο την υγεία των ασθενών. Οι ασθενείς αυτοί χρήζουν άμεσης νοσηλείας και παρακολούθησης, σε μονάδες εντατικής φροντίδας, με ευρείας αντιβιοτική κάλυψη και άμεση έναρξη συστηματικής θεραπείας.

1.4.5. Περιοχική ψωρίαση

Η κλινική εικόνα της ψωρίασης παρουσιάζει ιδιομορφίες όταν η νόσος εντοπίζεται σε ειδικές θέσεις, όπως στο τριχωτό της κεφαλής, το πρόσωπο, τις παλάμες και τα πέλματα, τις πτυχές, τους βλεννογόνους ή τους όνυχες.

Τριχωτό κεφαλής

Η προσβολή του τριχωτού της κεφαλής είναι συχνή και όχι σπάνια αποτελεί την πρώτη κλινική εκδήλωση της νόσου. Συνήθως εμφανίζεται με τη μορφή ερυθματολεπιδωδών πλακών στην ινιακή χώρα και οπισθοωτιαία. Οι βλάβες είναι σαφώς περιγεγραμμένες και από το εσωτερικό τους αναδύονται οι τρίχες. Περιγράφονται και διάχυτες μορφές που καταλαμβάνουν όλη την έκταση του τριχωτού της κεφαλής. Η φλεγμονώδη διήθηση και τα λέπια περιβάλλουν τις ρίζες των τριχών χωρίς να προκαλείται αλωπεκία. Οι βλάβες συχνά επεκτείνονται και στην μετωπιαία περιοχή. Η διαφορική διάγνωση περιλαμβάνει την σμηγματορροϊκή δερματίτιδα, τον δισκοειδή λύκο και την τριχοφυτίαση.

Ανάστροφη ψωρίαση

Συνήθως προσβάλλονται οι πτυχές του σώματος στις μηροβουβωνικές, μασχालιαίες και υπομαστικές περιοχές, την μεσογλουτιαία σχισμή, παλάμες και πέλματα. Προσβάλλονται συχνότερα οι μεσήλικες, οι ηλικιωμένοι και ιδιαίτερα τα παχύσαρκα άτομα λόγω έντονης τριβής του δέρματος. Είναι δυνατόν να μη συνοδεύεται από άλλες τυπικές ψωριασικές βλάβες, ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις αποτελεί τη μόνη ή την κυριότερη κλινική εικόνα της νόσου. Οι αλλοιώσεις είναι σαφώς περιγεγραμμένες, εφυγρανθείσες, έντονα ερυθρές και στιλπνές. Σπανιότερα εντοπίζεται περιομφαλικά και στις μεσοδακτύλιες πτυχές, ιδίως των κάτω άκρων. Το λευκωπό επίχρισμα που δεν υποχωρεί μετά από αντιμυκητιασική αγωγή ίσως αποτελεί κλινική εκδήλωση της ψωρίασης. Η οπισθοωτιαία εντόπιση και γενικότερα ή ψωρίαση στις πτυχές, όπως αναφέρθηκε δημιουργεί πρόβλημα διαφορικής διάγνωσης ή αλληλεπικάλυψης ψωρίασης και σμηγματορροϊκής δερματίτιδας, παρατρίμματος ή δερμοφυτιάσεως (Εικ.3).

Βλεννογόνοι

Η προσβολή του στοματικού βλεννογόνου είναι σπάνια και συμβαίνει κυρίως στη φλυκταινώδη και ερυθροδερμική μορφή της ψωρίασης. Εμφανίζονται κιτρινόφαιες ή λευκές, σαφώς αφοριζόμενες πλάκες στη γλώσσα, την υπερώα και τις παρειές. Συχνά εμφανίζεται εικόνα γεωγραφικής γλώσσας.

Η προσβολή του γεννητικού βλεννογόνου όπως αυτή του πέους μπορεί να συμβεί μεμονωμένα ή στα πλαίσια μίας γενικότερης προσβολής του δέρματος. Οι βλάβες είναι μονήρεις ή πολλαπλές και διατηρούν την σαφώς αφοριζόμενη μορφή των ψωριασικών πλακών. Ωστόσο τα αργυρόχροα λέπια μπορεί να λείπουν, ιδιαίτερα όταν η πλάκα καλύπτεται πλήρως από την πόσθη όπου η διαβροχή της περιοχής είναι έντονη.

Όνυχες

Περίπου 35% των ψωριασικών ασθενών εμφανίζουν προσβολή των ονύχων. Μπορεί να αποτελεί μεμονωμένη εκδήλωση της νόσου ή να συνοδεύει μία γενικότερη προσβολή του δέρματος. Οι μορφολογικές αλλοιώσεις των ονύχων στην ψωρίαση ποικίλλουν ανάλογα με τη χρονιότητα της κατάστασης και το τμήμα του όνυχος που προσβάλλεται (μήτρα, επιφάνεια νυχιού, υπονύχιο). Η πιο συχνή εκδήλωση είναι τα βοθρία, στικτές εμβυθύνσεις που εμφανίζονται στην επιφάνεια του νυχιού σε μερικά ή όλα τα δάκτυλα. Τα βοθρία είναι ενδεικτικά κλινικά σημεία της ψωρίασης αλλά όχι και παθογνωμονικά, αφού μπορούν να εμφανισθούν και σε άλλα νοσήματα όπως ο ομαλός λειχήνα ή η γυροειδής αλωπεκία.

Υπονύχια προσβολή προκαλεί αποχωρισμό του νυχιού από την κοίτη του και ονυχόλυση, ενώ το χαρακτηριστικό υποκίτρινο χρώμα του προσβεβλημένου όνυχα, δίκην “σταγόνας λαδιού”, οφείλεται στη φλεγμονή και τη συσσώρευση ορώδους εξιδρώματος στον υπονύχιο χώρο. Η σταδιακή ανάπτυξη υπονύχιας υπερκεράτωσης

από την περιφέρεια του νυχιού προς το κέντρο και η φλεγμονώδης προσβολή της μήτρας του νυχιού μπορεί να προκαλέσει σοβαρή ονυχοδυστροφία και να οδηγήσει σε παροδική απώλεια των ονύχων. Στη φλυκταινώδη μορφή της ψωρίασης μπορούν να προκληθούν καταστροφικές αλλαγές των νυχιών λόγω της προσβολής της μήτρας του νυχιού και του υπονύχιου από άσηπτες φλύκταινες (ακροδερματίτιδα του Hallopeau). Οι ψωριασικές αλλαγές των ονύχων συχνά επιδεινώνονται από μυκητιασικές επιμολύνσεις από δερματόφυτα ή candida ενώ, σε ορισμένες περιπτώσεις, μπορούν να αποτελέσουν πύλες εισόδου μικροβίων με αποτέλεσμα την εκδήλωση βακτηριακών λοιμώξεων του δέρματος.

1.5 ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑ

Αρχικά εμφανίζεται διαστολή των τριχοειδών και οίδημα στο θηλώδες χόριο, με λεμφοκυτταρική περιαγγειακή διήθηση. Τα λεμφοκύτταρα εισέρχονται στο κατώτερο μέρος της επιδερμίδας όπου αναπτύσσεται σπογγίωση. Ακολουθεί μείωση ή εξαφάνιση των κυττάρων της κοκκώδους στιβάδας και έναρξη της παρακερατώσης (Pinkus H 1996). Στο ψωριασικό δέρμα, παρατηρούνται οι εξής ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις:

1) Υπερκεράτωση, ακάνθωση, παρακεράτωση, επιμήκυνση των επιθηλιακών καταδύσεων της επιδερμίδας στο χόριο 2) λέπτυνση του τμήματος της επιδερμίδας πάνω από τις θηλές και δημιουργία σπογγοειδών φλυκταινιδίων (φλυκταινίδια του Kogoj) λόγω συσσωρεύσεως ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων, 3) ελάττωση ή πλήρης έλλειψη της κοκκώδους στιβάδας 4) μικροαποστημάτια Munro, τα οποία σχηματίζονται στην κεράτινη στιβάδα των πρώιμων αλλοιώσεων, κυρίως από την

άθροιση ουδετερόφιλων πολυμορφοπύρηνων. 5) επιμήκυνση και οίδημα στις θηλές του χορίου 6) διαστολή και ελικοειδής διαμόρφωση των τριχοειδών 7) φλεγμονώδης διήθηση από λεμφοκύτταρα, μονοκύτταρα, μακροφάγα, ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνια, και μαστοκύτταρα στο χόριο (Εικ.4).

1.6 ΑΙΤΙΟΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Η ψωρίαση χαρακτηρίζεται από μια γενετικά προκαθορισμένη ανωμαλία στην ρύθμιση της διαφοροποίησης και της μιτωτικής δραστηριότητας των επιθηλιακών κυττάρων της επιδερμίδας. Πρωταρχικό ρόλο στην έναρξη και διατήρηση των ψωριασικών βλαβών έχουν τα T-λεμφοκύτταρα από την στιγμή που η φλεγμονώδης διήθηση στο χόριο προηγείται των επιδερμικών βλαβών. Μετά την επίδραση ενός άγνωστου ως τώρα αντιγόνου, παρατηρείται ωρίμανση των κυττάρων Langerhans και μετανάστευσή τους στους επιχώριους λεμφαδένες. Εκεί το αντιγονοπαρουσιαστικό κύτταρο (APC) αλληλεπιδρά με τα T-λεμφοκύτταρα με αποτέλεσμα την ενεργοποίησή τους (CD25+, CD27+, CD69+, CLA+). Ακολουθεί πολλαπλασιασμός των naïve T-λεμφοκυττάρων (CD45RA+) μερικά από τα οποία αποκτούν χαρακτηριστικά κυττάρων μνήμης (CD45RO+), εισέρχονται στην κυκλοφορία και εξέρχονται στα σημεία φλεγμονής μέσω αλληλεπιδράσεως του μορίου LFA-1 με το μόριο προσκολλησεως ICAM-1 το οποίο εκφράζεται στο παθολογικό ενδοθήλιο των αγγείων καθώς και στα κερατινοκύτταρα της ψωριασικής επιδερμίδας (Lebwohl 2003). Στην επιδερμίδα και το χόριο των ψωριασικών βλαβών τα T-λεμφοκύτταρα εκκρίνουν πληθώρα κυτταροκινών τύπου Th1 (κυρίως IFN- γ , IL-2 και TNF- α), οι οποίες είναι σε θέση να διεγείρουν γειτονικά κύτταρα όπως δένδριτικά, μακροφάγα,

κερατινοκύτταρα τα οποία με την σειρά τους εκκρίνουν νέες κυτταροκίνες (Prinz 2003).

Εδώ θα πρέπει να τονίσουμε την δράση του TNF-α. Παρατηρείται αυξημένη έκφραση του TNF-α στις ψωριασικές βλάβες από τα κερατινοκύτταρα της επιδερμίδας αλλά και από τα μακροφάγα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα του χορίου. Ο TNF-α επάγει την φλεγμονώδη απάντηση μέσω της παραγωγής IL-1, IL-6, IL-8, NFκB, VIP και TGFα, προάγει την έκφραση των αντιγόνων ιστοσυμβατότητας HLA-DR και των μορίων προσκολλητικότητας (ICAM-1, VCAM-1, E-σελεκτίνη, P-σελεκτίνη) στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων, διεγείρει την μετανάστευση των κυττάρων Langerhans και επάγει την απόπτωση (Victor & Gottlieb 2002).

Τελικό αποτέλεσμα είναι η αύξηση της μιτωτικής δραστηριότητας, η μειωμένη ωρίμανση των κερατινοκυττάρων και η εμφάνιση των χαρακτηριστικών αγγειακών διαταραχών. Στην επιδερμίδα των ψωριασικών βλαβών επικρατούν τα CD8+ T-λεμφοκύτταρα, ενώ τα CD4+ βρίσκονται συχνότερα στο ανώτερο τμήμα του χορίου (Gudjonsson et al. 2004) (Σχ.1).

1.7 ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΨΩΡΙΑΣΗΣ

Από πλευράς θεραπευτικής υπάρχει πλούσια θεραπευτική φαρέτρα για την ψωρίαση.

Αυτή περιλαμβάνει τοπικές και συστηματικές θεραπείες.

Στις τοπικές εντάσσονται: Ανθραλίνη, ανάλογα βιταμίνης D3, πίσσα, τοπικά κορτικοστεροειδή, μαλακτικοί παράγοντες, θεραπείες με υπεριώδες φως:

PUVA, BATH PUVA, θαλασσοθεραπεία, στενό φάσμα υπεριώδους ακτινοβολίας B

Συστηματικές Θεραπείες: Μεθοτρεξάτη, κυκλοσπορίνη, ρετινοειδή, εστέρες του φουμαρικού οξέος, βιολογικοί παράγοντες, μικρολακτάμες, συνδυασμοί θεραπειών

Νέες Προοπτικές: α) Διαγονιδιακά πειραματόζωα (μοντέλο για ψωρίαση), β) γενετικές θεραπείες (Nelson et al. 2006).

1.7.1 Βιολογικοί παράγοντες

Ετανερσέπτη

Έχει εγκριθεί για την θεραπεία της ρευματοειδούς αρθρίτιδας, της ψωρίασης και της ψωριασικής αρθρίτιδας. Πρόκειται για μια πρωτεΐνη σύντηξης, που αποτελείται από την εξωκυττάρια περιοχή του ανθρώπινου TNF-α υποδοχέα, σε σύντηξη με το Fc τμήμα της ανθρώπινης IgG1.

Αδαλιμουμάμπη

Χρησιμοποιείται στη θεραπεία της ρευματοειδούς αρθρίτιδας και της ψωρίασης. Είναι ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα εναντίον του TNF-α που μπλοκάρει την αλληλεπίδραση με τους p55, p75 υποδοχείς της κυτταρικής επιφάνειας

Ινφλιξιμάμπη

Πρόκειται για ένα χμαιοειδές ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του TNF-α. Αδρανοποιεί τον διαλυτό TNF-α και μπλοκάρει τον συνδεδεμένο TNF-α στις κυτταρικές μεμβράνες. Χρησιμοποιείται στην ψωρίαση και φλεγμονώδεις παθήσεις του εντέρου.

Ουστεκινουμάμπη

Πρόκειται για πλήρως ανθρώπινο μονοκλωνικό IgG1 αντίσωμα έναντι της ιντερλευκίνης 12/23. Χρησιμοποιείται για την θεραπεία μέτριας ως σοβαρής ψωρίασης (Gisoni et al. 2007), Leonardi et al. 2008) (Σχ.2).

2. ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗ

2.1 ΟΡΙΣΜΟΣ, ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΙ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗ

Ο όρος αγγειογένεση περιγράφει τον σχηματισμό νέων αγγείων (τριχοειδών) από προϋπάρχοντα αγγεία (τριχοειδή και μετατριχοειδικά φλεβίδια). Φυσιολογικά απαντάται κατά την αναγέννηση του ενδομητρίου, κατά το σχηματισμό κοκκιώδους ιστού σε φλεγμονή και τραυματισμό, κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης καθώς και κατά την εμβρυογένεση. Παρ' όλα αυτά, υπάρχουν αρκετές ασθένειες που οφείλονται στην ανεξέλεγκτη αγγειογένεση. Στην αρθρίτιδα, νέα τριχοειδή αγγεία του αίματος εισβάλλουν στις αρθρώσεις και καταστρέφουν το χόνδρο. Στον σακχαρώδη διαβήτη παρατηρείται εμφάνιση νέων τριχοειδών του αμφιβληστροειδή χιτώνα που εισβάλλουν στον υαλώδη χιτώνα. Άμεσα συνδεδεμένες με την αγγειογένεση είναι η αύξηση των όγκων και η μετάσταση (Folkman et al. 2007). Τα νεοπλάσματα πρέπει συνεχώς να διεγείρουν τη δημιουργία νέων τριχοειδών αιμοφόρων αγγείων για να μπορέσουν να αυξηθούν. Άλλες παθολογικές καταστάσεις όπου εμφανίζεται σχηματισμός νέων αγγείων είναι η αθηροσκλήρωση, η ψωρίαση, η ρευματοειδής αρθρίτιδα κ.ά. (Jain et al. 2003). Η φυσιολογική αγγειογένεση διαρκεί περιορισμένο χρονικό διάστημα, όπως μερικές ημέρες κατά τη διάρκεια του έμμηνου κύκλου ή μερικές εβδομάδες κατά την επούλωση των πληγών. Αντίθετα, η παθολογική αγγειογένεση μπορεί να διαρκέσει για χρόνια (Creamer D et al. 2002).

2.2 Η ΘΕΩΡΙΑ ΙΣΟΡΡΟΠΙΑΣ

Σύμφωνα με την “υπόθεση ισορροπίας” (Balance hypothesis), η αγγειογένεση ρυθμίζεται από την ισορροπία ανάμεσα σε παράγοντες προαγωγικούς ή

αγγειογενετικούς και παράγοντες ανασταλτικούς ή αντιαγγειογενετικούς (Pandya et al.,2006) (Πίν.2).

2.2.1. Αγγειογενετικοί παράγοντες

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα εκφράζουν ένα μεγάλο αριθμό αυξητικών παραγόντων και των αντίστοιχων υποδοχέων τους, που επάγουν την αγγειογένεση *in vivo*. Μέχρι το 1992 είχαν απομονωθεί και χαρακτηριστεί πλήρως 8 αγγειογενετικά πολυπεπίδια : aFGF, bFGF, VEGF/VPF, PD-ECGF, TGF- α , αγγειογενίνη, TGF- β και TNF- α που παρουσίαζαν μεγάλες διαφορές στα βιολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά τους.

Ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) είναι ο πιο καλά μελετημένος αυξητικός παράγοντας. Έχουν βρεθεί οι εξής ισομορφές: VEGF121, VEGF145, VEGF165, VEGF189 και VEGF206. Ο VEGF165 είναι μια γλυκοπρωτεΐνη με μοριακό βάρος 45 kDa και με ικανότητα δέσμευσης στην ηπαρίνη. Ο VEGF121 είναι ασθενές όξινο πολυπεπίδιο, που δεν μπορεί να δεσμευτεί στην ηπαρίνη. Τόσο ο VEGF121 όσο και ο VEGF165 εκκρίνονται στο εξωκυτταρικό περιβάλλον και είναι διαλυτές μορφές, αν και ένα σημαντικό τμήμα του VEGF165 παραμένει δεσμευμένο στην επιφάνεια του κυττάρου και στο εξωκυτταρικό υλικό. Αντίθετα, οι VEGF189 και VEGF206 βρίσκονται δεσμευμένοι σε πρωτεογλυκάνες θειικής ηπαράνης και έτσι μπορούν και απελευθερώνουν άλλους αγγειογενετικούς παράγοντες, όπως είναι ο bFGF, οι οποίοι βρίσκονται αποθηκευμένοι σε μόρια θειικής ηπαράνης του εξωκυτταρικού υλικού. Οι VEGF121, VEGF145 και VEGF165 επάγουν τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων και την αγγειογένεση *in vivo* (Ferrara et al. 2003).

Ο αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών, FGF (Fibroblast Growth Factor) είναι ο επόμενος πιο γνωστός αυξητικός παράγοντας. Υπάρχουν δύο είδη, ο βασικός (basic

FGF, bFGF) και ο όξινος (acidic FGF, aFGF). Η διαφορά τους εντοπίζεται στο ισοηλεκτρικό σημείο (pI). Έχουν υψηλή χημική συγγένεια για την ηπαρίνη και παίζουν σημαντικό ρόλο στην αγγειογένεση (Papetti and Herman, 2002). Οι FGFs παρουσιάζουν πλειοτροπική δράση, αφού επάγουν την αύξηση ενδοθηλιακών, λείων μυϊκών κυττάρων, ινοβλαστών και συγκεκριμένων ενδοθηλιακών κυττάρων. Επίσης, προάγουν την προέκταση των νευριτών. Κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες δρουν ως παράγοντες διαφοροποίησης και συντήρησης των νευρώνων, ενώ ταυτόχρονα αναστέλλουν τη διαφοροποίηση των μυοβλαστών.

Ένας άλλος σημαντικός αυξητικός παράγοντας είναι ο αυξητικός παράγοντας των αιμοπεταλίων, PDGF (Platelet-derived growth factor). Έχει ανιχνευτεί εκτός από τα αιμοπετάλια και σε άλλους τύπους κυττάρων, όπως οι ινοβλάστες, τα κερατινοκύτταρα, οι μυοβλάστες, τα αστροκύτταρα, τα επιθηλιακά κύτταρα και τα μακροφάγα. Είναι ένα μόριο με δύο πολυπεπτιδικές αλυσίδες A και B και έχει μοριακό βάρος 45 kDa. Όταν ο PDGF διεγείρει ενδοθηλιακά κύτταρα που εκφράζουν τον υποδοχέα του, επάγει τη σύνθεση DNA και τη δημιουργία ψευδοαγγείων *in vitro* (Battagay et al. 1994). Άλλα *in vitro* πειράματα δείχνουν ότι ο PDGF επηρεάζει και με έμμεσο τρόπο την αγγειογένεση, επάγοντας την έκφραση παραγόντων, όπως ο παράγοντας von Willebrand και ο VEGF (Edelberg et al. 1998).

Οι αυξητικοί παράγοντες TGF- α (Transforming Growth Factor- α) και EGF (Epidermal Growth Factor) αποτελούν σημαντικούς ρυθμιστές της αγγειογένεσης. Οι υποδοχείς του EGF ανήκουν σε μια ομάδα πρωτο-ογκογονιδίων, που περιλαμβάνει το c-erbB-2, το οποίο υπερεκφράζεται σε ένα σημαντικό αριθμό νεοπλασμάτων στον άνθρωπο. Άλλοι αγγειογενετικοί παράγοντες χαμηλού μοριακού βάρους που είναι μιτογόνοι είναι οι προσταγλανδίνες PGE1 και PGE2.

2.2.2. Αντιαγγειογενετικοί παράγοντες

Από τους σημαντικότερους αναστολείς της αγγειογένεσης είναι η αγγειοστατίνη και η ενδοστατίνη. Τα δύο αυτά μόρια ανήκουν σε μία κατηγορία παραγόντων που έχουν αντιαγγειογενετική δράση και προκύπτουν από πρωτεολυτική διάσπαση μεγαλύτερων, φυσιολογικά παραγόμενων πρωτεϊνών. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι οι περισσότεροι παράγοντες αυτής της κατηγορίας προκύπτουν από πρωτεΐνες του εξωκυτταρικού υλικού, όπως ινονεκτίνη και κολλαγόνο ή από ένζυμα που συμμετέχουν στην αναδιοργάνωση του εξωκυτταρικού υλικού, όπως το πλασμινογόνο και η μεταλλοπρωτεΐνάση-2 (Parette and Herman, 2002).

Η αγγειοστατίνη είναι πρωτεΐνη μοριακού βάρους 38 kDa και αποτελεί τμήμα του πλασμινογόνου. Μετά από πειράματα που έγιναν βρέθηκε ότι αναστέλλει την ανάπτυξη των ενδοθηλιακών κυττάρων *in vitro* και την αγγειογένεση *in vivo* (Jimenez and Volpert, 2001). Η ενδοστατίνη είναι πρωτεΐνη μοριακού βάρους 20 kDa και αποτελεί τμήμα του κολλαγόνου τύπου VIII. Αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων *in vitro* και την αγγειογένεση *in vivo* στο σύστημα της CAM εμβρύου όρνιθας (Ambs et al. 1999).

Ένας άλλος σημαντικός αντιαγγειογενετικός παράγοντας είναι η θρομβοσπονδίνη (TSP), η οποία αποτελεί μόριο του εξωκυτταρίου χώρου. Υπάρχει η TSP-1 και η TSP-2. Τόσο η TSP-1 όσο και η TSP-2 αναστέλλουν την ανάπτυξη των όγκων *in vivo* και *in vitro*, ενώ συμβάλλουν και στο στάδιο ηρεμίας του ενήλικου αγγειακού πλέγματος (Jimenez and Volpert, 2001).

Τα μέλη της οικογένειας των αναστολέων των μεταλλοπρωτεασών, TIMPs (Ossue Inhibitors of Metalloproteinases) έχουν επίσης αντιαγγειογενετική δράση. Οι TIMPs έχουν βρεθεί σε μια ποικιλία κυττάρων και ιστών. Μετά από πειράματα που έγιναν

βρέθηκε ότι οι αναστολείς αυτοί μπορούν να μπλοκάρουν άμεσα τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση τόσο των καρκινικών όσο και των ενδοθηλιακών κυττάρων in vitro (Powell and Matrisian, 1996; Anand-Apte et al. 1997).

2.3 Ο ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗΣ

Τα πιο σημαντικά σημεία στην αγγειογένεση είναι:

1. Αλληλεπίδραση της αγγειοποιητίνης-2 με τον υποδοχέα Tie-2 του ενδοθηλίου με αποτέλεσμα την αποσταθεροποίηση του αγγείου και την αποδιοργάνωση των περικυττάρων.
2. Ενεργοποίηση του ενδοθηλίου. Με την επίδραση και του παράγοντα VEGF, αυξάνει η διαπερατότητα του ενδοθηλίου ώστε διάφορες πρωτεΐνες να εξαγγειωθούν στο μεσεγχυματικό περιαγγειακό χώρο.
3. Πολλαπλασιασμός των ενδοθηλιακών κυττάρων υπό την επίδραση ισχυρών αγγειογενετικών παραγόντων (VEGF, FGF, EGF).
4. Μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων με βασικό ρόλο αυτόν της ιντεγκρίνης ανβ3.
5. Ανακατασκευή του ενδοθηλίου και μεσοκυττάρια επαφή με την έκφραση της VE-Cadherin.
6. Σχηματισμός του πρωτογενή αγγειακού αυλού που χαρακτηρίζει τα νεόπλαστα τριχοειδή.
7. Σχηματισμός των νέων αγγείων, με τα μεσεγχυματικά κύτταρα, υπό την επίδραση του παράγοντα PDGF και της αγγειοποιητίνης-2, να πολλαπλασιάζονται και να ακολουθούν τα ενδοθηλιακά κύτταρα.
8. Σταθεροποίηση των νεόδητων αγγείων με τη διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών κυττάρων σε περικύτταρα υπό την επίδραση του TGF-β και οργάνωσή τους γύρω από τα νέα αγγεία (Folkman et al. 1995) (Σχ.3).

2.4 Η ΑΓΓΕΙΟΒΡΙΘΕΙΑ ΤΟΥ ΘΗΛΩΔΟΥΣ ΧΟΡΙΟΥ ΣΤΗΝ ΨΩΡΙΑΣΗ

Οι ιστοπαθολογικές αλλαγές κλειδιά στη ψωρίαση είναι η υπερακάνθωση, η παρακεράτωση, η λέπτυνση της επιδερμίδας άνω των θηλών του χορίου (suprapapillary thinning), η φλεγμονώδης διήθηση κυρίως με T-λεμφοκύτταρα, μονοκύτταρα και ουδετερόφιλα καθώς και η αυξημένη αγγειοβρίθεια του θηλώδους χορίου (Gottlieb et al. 2005).

Στο φυσιολογικό δέρμα το επιπολής αγγειακό δίκτυο αποτελείται από τριχοειδικές αγκύλες (capillary loops) που προέρχονται από τα τελικά αρτηριόλια του εν τω βάθει (horizontal) αρτηριοφλεβικού πλέγματος. Στη ψωρίαση οι τριχοειδικές αυτές αγκύλες κάτω από το οπτικό μικροσκόπιο παρατηρούνται διασταλμένες, επιμηκυσμένες ενώ η τριχοειδοσκόπηση καταδεικνύει ξεκάθαρα και την οφιοειδή πορεία τους. Η ανοσοϊστοχημεία και η μελέτη των αποτελεσμάτων της με τεχνικές image analysis σε βλαθέντα ιστό καθώς και σε υγιές δέρμα ψωριασικών ασθενών, αποδεικνύουν τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων αλλά μόνο του επιπολή αρτηριοφλεβικού πλέγματος ενώ το εν τω βάθει παραμένει φυσιολογικό (Creamer et al. 1997).

Μελέτες υποστηρίζουν ότι αυτές οι αγγειακές αλλαγές πραγματοποιούνται νωρίς στην ανάπτυξη των ψωριασικών βλαβών ακόμη και όταν η υπερκείμενη επιδερμίδα είναι φυσιολογική. Η Doppler ροομετρία δείχνει αυξημένη αιματική ροή του δέρματος γύρω από τις βλάβες ενώ η ανοσοϊστοχημεία ότι ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων και ο πληθυσμός των λευκοκυττάρων είναι ακόμη αμετάβλητοι. (Creamer et al. 2003).

2.4.1 Τα νεόδητα αγγεία

Οι τριχοειδικές αγκύλες (capillary loops) που προέρχονται από τα τελικά αρτηριόλια, έχουν τα χαρακτηριστικά φλεβιδίων με οπές στο ενδοθήλιο και με μόνο-ή πολύστιβη βασική μεμβράνη. Η επικρατούσα θεωρία για την «φλεβοποίηση» των αρτηριολίων είναι ότι ο πολλαπλασιασμός των ενδοθηλιακών κυττάρων με σκοπό να θρέψουν τις ψωριασικές επιμηκυσμένες δερματικές θηλές, γίνεται στην «φλεβική» άκρη του επιπολή αρτηριοφλεβικού δικτύου με αποτέλεσμα να εκτοπίζουν σιγά –σιγά το «αρτηριακό» άκρο. Έτσι όλα τα νέα κύτταρα που δημιουργούνται και σχηματίζουν τα νεόδητα αγγεία να έχουν φλεβικό φαινότυπο και να είναι επιμηκυσμένα με οφιοειδή σχήμα (Goedkoop et al. 2004) (Σχ.4).

Εδώ θα πρέπει να σημειώσουμε την ενεργό συμμετοχή των αγγείων στη παθογένεια της ψωρίασης. Η ψωρίαση ως αυτοάνοσο νόσημα χαρακτηρίζεται από διήθηση του χορίου και της επιδερμίδας με T-λεμφοκύτταρα. Τα T-λεμφοκύτταρα στις ψωριασικές βλάβες είναι ενεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα..

3. ΑΠΟΠΤΩΣΗ

3.1 ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Ο όρος απόπτωση χρησιμοποιείται ευρύτερα στη σύγχρονη Ιατρική και Βιολογία, αφού μέχρι σήμερα έχουν εντοπιστεί περίπου 20.000 σχετικές αναφορές. Πρόκειται για αρχαία ελληνική λέξη, που στο παρελθόν έχει χρησιμοποιηθεί σε Ιπποκρατικά και Γαληνικά συγγράμματα, καθώς και σε συγγράμματα ρωμαίων ιατρών. Συνώνυμο της απόπτωσης είναι ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος, που εκφράζει τη ρυθμιζόμενη ενεργοποίηση ενός προϋπάρχοντος προγραμματισμένου θανάτου κωδικοποιημένου στο γενετικό υλικό.

Τον κυτταρικό θάνατο κατά τη φυσιολογική ανάπτυξη περιέγραψε για πρώτη φορά ο Glucksmann το 1951. Το 1965, ο Kerr μελέτησε το θάνατο των ηπατοκυττάρων, μετά από απολίνωση κλάδου της πυλαίας φλέβας, όπου διέκρινε εστίες νέκρωσης, αλλά παρατήρησε και διάσπαρτα, μονήρη ηπατοκύτταρα με συρρικνωμένους πυρήνες και πυρηνικές μάζες, χωρίς λύση των λυσοσωμάτων ή κάποια στοιχεία φλεγμονής. Το 1971, μετά από παρατηρήσεις στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, διαπίστωσε ότι οι πυρηνικές μάζες ήταν σωματίδια περιβαλλόμενα από μεμβράνη, που περιείχαν τμήματα συμπυκνωμένης χρωματίνης και κυτταροπλασματικά οργανίδια και αποκάλεσε το φαινόμενο «νέκρωση εκ συρρικνώσεως». Το 1972, οι Kerr και Searle, εμπνεόμενοι από την Ιλιάδα, θεώρησαν ότι η εκλεκτική και προγραμματισμένη απομάκρυνση των κυττάρων από τον οργανισμό προσομοιάζει με «τα φύλλα που ο άνεμος χαμάδις χέει» και πρότειναν να ονομαστεί το φαινόμενο «απόπτωση» (Kerr JFR et al. 1972) .

Παρόλο που η απόπτωση έχει περιγραφεί εδώ και δεκαετίες ως ξεχωριστό βιολογικό φαινόμενο, μόνο πρόσφατα έγιναν σημαντικές πρόοδοι στην κατανόηση των θεμελιωδών μηχανισμών που τη ρυθμίζουν. Οι περισσότερες γνώσεις μας για τον αποπτωτικό μηχανισμό προέρχονται από τη μελέτη του νηματοειδούς σκώληκα *Caenorhabditis elegans*, ενώ η μεγαλύτερη πρόοδος συντελέστηκε από την ταυτοποίηση των «γονιδίων θανάτου» πριν από μία δεκαετία.

3.2 ΑΠΟΠΤΩΤΙΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ

Παρά τις αξιόλογες προόδους των τελευταίων χρόνων, η πλήρης κατανόηση του αποπτωτικού μηχανισμού δυσχεραίνεται λόγω της πολυπλοκότητάς του και το πλήθος των σημάτων που ελέγχουν την ενεργοποίησή του.

Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι οι ίδιες οδοί χρησιμοποιούνται και για τη μετάδοση σημάτων αύξησης και διαφοροποίησης, όπως τα εξωκυττάρια σήματα καθώς και τα σήματα από γειτονικά κύτταρα, που μπορούν τόσο να ενεργοποιήσουν όσο και να καταστείλουν τα προγράμματα θανάτου. Η απόπτωση, όπως προκύπτει από τις μελέτες που έγιναν μέχρι σήμερα, επιτελείται σε τρία διαδοχικά στάδια. Αυτά είναι (α) ο προγραμματισμός σε θάνατο από εξωκυττάρια ή ενδοκυττάρια σήματα, (β) η ολοκλήρωση του κυτταρικού θανάτου μέσω της ενεργοποίησης των κασπασών και (γ) η απομάκρυνση των διαλυμένων κυττάρων με φαγοκυττάρωση και η διάσπασή τους από τα λυσοσωματικά ένζυμα των φαγοκυττάρων. (Schultz DR et al. 2003) (Σχ.5).

3.3 ΤΑ ΓΟΝΙΔΙΑ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ

Ο μεγάλος αριθμός των γονιδίων που σχετίζονται με τη ρύθμιση της απόπτωσης μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις μεγάλες κατηγορίες: (α) τα επαγωγικά, όπως η οικογένεια των γονιδίων ICE (interleukin-1 β converting enzyme), τα γονίδια ced-3, ced-4, bax, bcl-xS, bad κ.ά., (β) τα ανασταλτικά, όπως τα bcl-2, bcl-xL, bcl-w, nrl3 κ.ά. και (γ) οι παράγοντες μεταγραφής c-myc, p53, p21/waf-1, c-fos, jun, cdc25 κ.ά. (Πίν.3).

3.3.1 Fas και Fas ligand

Κεντρικό ρόλο στην απόπτωση παίζουν και τα γονίδια fas και fas ligand, τα οποία κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες Fas και Fas ligand. Η οικογένεια των υποδοχέων τύπου Fas (CD95) περιλαμβάνει ένα μεγάλο αριθμό πρωτεϊνικών μελών, όπως είναι οι δύο υποδοχείς του TNF (TNFR1 και TNFR2), ο υποδοχέας της λεμφοτοξίνης - β , τα CD40, CD27 και CD30 μεμβρανικά αντιγόνα. Μελέτες in vivo αλλά και in vitro έδειξαν τη συμμετοχή των πρωτεϊνών Fas/Fas ligand στην εξάλειψη ενεργοποιημένων T- λεμφοκυττάρων κατά τη λήξη μιας ανοσολογικής αντίδρασης, στην καταστροφή κυττάρων στόχων (όπως κύτταρα προσβεβλημένα από ιούς ή καρκινικά κύτταρα) μέσω των T-κυτταροτοξικών κυττάρων και των NK και στην εξάλειψη κυττάρων φλεγμονής σε ανοσολογικά προνομιακούς ιστούς, όπως ο όρχις και ο οφθαλμός. Τελευταία, διαπιστώθηκε και η έκφραση των πρωτεϊνών Fas/Fas ligand και σε θυρεοειδικά κύτταρα και πιθανολογείται η συμμετοχή της οδού Fas στην παθογένεια αυτοάνοσων θυρεοειδικών αλλά και άλλων παθήσεων του ενδοκρινικού συστήματος (Curtin JF et al. 2003) (Σχ.7) .

3.3.2 Οικογένεια των γονιδίων ICE

Από τους πιο σημαντικούς τελεστές (effectors) της απόπτωσης είναι και η οικογένεια γονιδίων ICE. Η πρωτεΐνη ICE εμφανίζει ομολογία με την πρωτεΐνη Ced3 (cell death protein 3) του νηματοειδούς σκώληκα *Caenorhabditis elegans*, από τη μελέτη του οποίου προέκυψαν οι περισσότερες γνώσεις μας πάνω στην απόπτωση. Ένα δυνητικό υπόστρωμα για τις πρωτεάσες ICE/CED3, κατά τη διαδικασία της απόπτωσης, είναι η πολύ-ADPριβο-πολυμεράση (PARP). Το PARP είναι ένα ένζυμο που σχετίζεται με την επιδιόρθωση του DNA η πρωτεόλυση του οποίου γίνεται από ένζυμο της οικογένειας ICE . Αυτό θα έχει ως αποτέλεσμα τη μη επιδιόρθωση του DNA και την έναρξη της απόπτωσης (Harrington et al. 1994).

3.3.3 Οικογένεια Bcl-2

Εκτός όμως από τα παραπάνω γονίδια, που η έκφρασή τους προκαλεί την ενεργοποίηση της απόπτωσης, ενδιαφέρον παρουσιάζουν και γονίδια των οποίων η έκφραση αναστέλλει τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο, τα λεγόμενα ανασταλτικά αποπτωτικά γονίδια. Στην κατηγορία αυτή, σημαντική θέση κατέχουν τα γονίδια που κωδικοποιούν μέλη της οικογένειας πρωτεϊνών Bcl-2. Η οικογένεια των πρωτεϊνών Bcl-2 έχει κεντρικό ρόλο στη ρύθμιση της απόπτωσης και συσχετίζεται με την παθογένεια πολλών παθήσεων. Μελέτες του γονιδίου bcl-2 αποκάλυψαν ότι αλληλεπιδρά και με ένα άλλο γονίδιο, που ονομάζεται bax και κωδικοποιεί την πρωτεΐνη Bax (Bcl-2 associated x protein). Η πρωτεΐνη αυτή, η οποία ανήκει στην ίδια οικογένεια πρωτεϊνών, σχηματίζει ετεροδιμερή με την Bcl-2 και η αναλογία των Bcl-2/Bax καθορίζει την επιβίωση των κυττάρων μετά από ένα αποπτωτικό ερέθισμα, όπως για παράδειγμα ύστερα από την ελάττωση ενός παράγοντα ανάπτυξης. Συγκεκριμένα, σε αναστολή της έκφρασης του γονιδίου bcl-2, η διέγερση της

απόπτωσης απαιτεί την έκφραση του γονιδίου *bax*. Όταν όμως συνεκφράζονται τα γονίδια *bcl-2* και *bax*, η πρωτεΐνη *Bax* ενώνεται με την *Bcl-2* και έτσι η δράση των γονιδίων αυτών εξουδετερώνεται στην απόπτωση. Η αποτυχία σύνδεσης της πρωτεΐνης *Bax* γύρω από την *Bcl-2* προκαλεί την έναρξη της απόπτωσης, καθώς επίσης και τη δημιουργία *Bax* ομοδιμερών (Σχ.6).

3.3.4 Γονίδια *c-myc* και *p53*

Σημαντικό ρόλο στην απόπτωση παίζουν και τα γονίδια *c-myc* και *p53*. Το *c-myc* φαίνεται να διεγείρει τόσο τον πολλαπλασιασμό όσο και την απόπτωση, ανάλογα με τη δράση άλλων σημάτων, όπως είναι η παρουσία αυξητικών παραγόντων.

3.4 ΘΕΤΙΚΗ ΚΑΙ ΑΡΝΗΤΙΚΗ ΕΠΑΓΩΓΗ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ

Υπάρχουν δύο κύριες οδοί που οδηγούν σε απόπτωση: (α) η θετική επαγωγή μέσω της σύνδεσης ενός υποκαταστάτη (ligand) σε υποδοχέα της κυτταρικής μεμβράνης και (β) η αρνητική επαγωγή με την απώλεια ενός κατασταλτικού σήματος (Vander Heiden et al. 1997).

Στην περίπτωση της αρνητικής επαγωγής της απόπτωσης, τα κύτταρα προγραμματίζονται να πεθάνουν όταν σταματούν να λαμβάνουν σήματα επιβίωσης από το περιβάλλον τους. Το γεγονός αυτό είναι πολύ σημαντικό, αφού εμποδίζει την ανάπτυξη κυττάρων εκτός της κατάλληλης γι' αυτά περιοχής και εξαλείφει κύτταρα με λειτουργίες που δεν συμβάλλουν στην επιβίωση του οργανισμού. Το φαινόμενο αυτό παρατηρείται στους νευρώνες, οι οποίοι οδηγούνται αυτόματα σε απόπτωση όταν σταματούν να λαμβάνουν ηλεκτρικά ερεθίσματα ή όταν στερηθούν τους νευροτροφικούς παράγοντες. Επίσης, εκτός από τα εξωκυττάρια σήματα, τα κύτταρα

έχουν την ικανότητα να λαμβάνουν και ενδοκυττάρια σήματα. Όταν συμβεί μια εσωτερική βλάβη, η οποία δεν είναι δυνατό να διορθωθεί, το κύτταρο οδηγείται σε απόπτωση. Παρόμοιος μηχανισμός παρατηρείται και όταν λαμβάνει ταυτόχρονα αντιφατικά σήματα για κυτταρικό πολλαπλασιασμό ή διακοπή του κυτταρικού κύκλου.

Κατά τη θετική επαγωγή της απόπτωσης (instructive apoptosis), οι μηχανισμοί σημάτων οδηγούν το κύτταρο άμεσα στο θάνατο. Αυτό παρατηρείται κατά την εξάλειψη των ενεργοποιημένων περιφερικών T-κυττάρων στο τέλος μιας ανοσιακής αντίδρασης, με αποτέλεσμα τη διατήρηση της ομοιόστασης των λεμφοκυττάρων στην περιφέρεια (Saikumar et al. 1999).

Η αρνητική επαγωγή της απόπτωσης είναι μια πολύπλοκη διαδικασία μετάδοσης σημάτων με πολλά στάδια, κατά τα οποία είναι απαραίτητη η σύνθεση πρωτεϊνών. Αντίθετα, η θετική επαγωγή απόπτωσης είναι άμεση και ενισχύεται με αναστολείς της πρωτεϊνοσύνθεσης. Κεντρικό ρόλο παίζουν οι υποδοχείς της κυτταρικής επιφάνειας, οι λεγόμενοι «υποδοχείς θανάτου» (death receptors), οι οποίοι μεταδίδουν σήματα από ειδικούς υποκαταστάτες και ενεργοποιούν τον αποπτωτικό μηχανισμό των κασπασών.

3.5 ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΘΑΝΑΤΟΥ (DEATH RECEPTORS)

Οι υποδοχείς θανάτου είναι μέλη της υπεροικογένειας των γονιδίων που κωδικοποιούν τον υποδοχέα του παράγοντα νέκρωσης των όγκων TNF (tumor necrosis factor receptor) (Πίν.4). Τα μέλη της οικογένειας αυτής χαρακτηρίζονται από την παρουσία παρόμοιων εξωκυττάρων περιοχών, που είναι πλούσιες σε κυστεΐνη. Επίσης, οι υποδοχείς θανάτου αποτελούν και μια υποομάδα στην υπεροικογένεια υποδοχέων TNFR, με μια ομόλογη κυτταροπλασματική περιοχή 80 αμινοξέων, η

οποία ονομάζεται «περιοχή θανάτου» DD ("death domain") και συμμετέχει στην απόπτωση (Tartaglia et al. 1993). Οι περιοχές θανάτου επιτρέπουν στους υποδοχείς θανάτου να συνδεθούν με τον αποπτωτικό μηχανισμό, ενώ σε κάποιες περιπτώσεις είναι διαμεσολαβητές και σε λειτουργίες διαφορετικές από την απόπτωση, όπως στην ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NFκB (nuclear factor-κB). Είναι ακόμη γνωστό ότι κάποια μόρια-προσαρμοστές (adaptor molecules) περιέχουν και αυτά περιοχές θανάτου, προκειμένου να μεταβιβάζουν σήματα από τους υποδοχείς θανάτου.

Στη διεθνή βιβλιογραφία μέχρι σήμερα αναφέρονται οι υποδοχείς CD95/Fas/Apo1 και ο τύπου 1 υποδοχέας του TNF ή TNFR1 (TNF-receptor 1, αναφερόμενος και ως CD120a ή p55), ο DR3 (death receptor 3), ο οποίος αναφέρεται και ως Apo3, TRAMP, LARD ή WSL-1. Άλλοι τέτοιοι υποδοχείς είναι ο CAR1, ο DR4 (death receptor 4, αναφερόμενος και ως TRAIL-R1) και ο DR5 (που αναφέρεται και ως Apo2, TRAIL-R2, TRICK 2 ή KILLER).

Ο ρόλος των υποδοχέων Fas, TNFR1 και DR3 είναι να μεταβιβάζουν τα αποπτωτικά σήματα μέσω του μορίου-προσαρμοστή FADD/Mort 1 (Fas-associated death domain), που περιέχει «περιοχή θανάτου». Ο υποδοχέας Fas συνδέεται στο FADD άμεσα, ενώ οι TNFR1 και DR3 συνδέονται μ' αυτό έμμεσα μέσω ενός άλλου μορίου-προσαρμοστή που λέγεται TRADD (TNF-receptor-associated death domain) (Σχ.8). Επίσης, ο FADD περιέχει μια περιοχή θανάτου "death effector domain" (DED), που συνδέεται με ανάλογη περιοχή της προκασπάσης-8. Ύστερα από τη μετάδοση του σήματος μέσω του FADD, ο ολιγομερισμός της κασπάσης-8, που είναι γνωστή και ως FLICE (FADD-like ICE) ή MACH, οδηγεί στην ενεργοποίησή της μέσω αυτοδιάσπασης. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα η κασπάση-8 να ενεργοποιεί άλλες

κασπάσες-τελεστές, όπως την κασπάση-9, οδηγώντας το κύτταρο στην απόπτωση. (Ashkenazi A et al. 1998).

3.6 ΚΑΣΠΑΣΕΣ ΚΑΙ ΑΠΟΠΤΩΣΗ

Οι κασπάσες είναι ειδικές πρωτεάσες που συμμετέχουν σε μια αλυσιδωτή αντίδραση που πυροδοτείται από προαποπτωτικά σήματα και οδηγεί στην κατάτμηση του DNA και στη διάλυση του κυττάρου. Το πλέον κριτικό στάδιο του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου εντοπίζεται στην εκλεκτική σχάση-διάσπαση των υποστρωμάτων στόχων, μετά τη διαφορική ενεργοποίηση του πρωτεολυτικού συστήματος των κασπασών. Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί 14 κασπάσες θηλαστικών με διαφορετικούς ρόλους στη φλεγμονή και στην απόπτωση. Ένας τρόπος δράσης των κασπασών είναι η απενεργοποίηση των πρωτεϊνών που προστατεύουν το κύτταρο από τον αποπτωτικό θάνατο (Zornig et al. 2001). Ένας άλλος τρόπος είναι η άμεση καταστροφή κυτταρικών σκελετών, όπως η πυρηνική lamina, που βρίσκεται κάτω από την κυτταρική μεμβράνη και συμβάλει στην οργάνωση της χρωματίνης (Parrizas et al. 1997). Επιπλέον, οι κασπάσες απορυθμίζουν τη δράση των πρωτεϊνών με διαχωρισμό των ρυθμιστικών και καταλυτικών περιοχών τους. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια ή την απόκτηση κάποιας πρωτεϊνικής λειτουργίας. Επίσης, προκαλούν την αποστολή σημάτων από τα κύτταρα, με κατάληξη τη δημιουργία αποπτωτικών σωματιδίων και τη φαγοκυττάρωση. Στην απόπτωση οι κασπάσες λειτουργούν είτε ως initiators «εναρκτές», είτε ως effectors «τελεστές» της διαδικασίας διάλυσης του κυττάρου, ως απάντηση σε προαποπτωτικά σήματα.

Η ενεργοποίηση των κασπασών-εναρκτών απαιτεί τη σύνδεσή τους με ειδικούς cofactors (συμπαράγοντες). Για παράδειγμα, η ενεργοποίηση της προκασπάσης-9

προϋποθέτει τη σύνδεσή της με τον συμπαράγοντα APAF-1 (Apoptotic Protease Activating Factor-1), επιπλέον όμως απαιτούνται και το κυτόχρωμα-c και ATP. Η δημιουργία του επαγόμενου από εξωγενή αποπτωτικά ερεθίσματα Araf1/Κυτόχρωμα-c κυτταροπλασματικού συμπλόκου προάγει την πρωτεολυτική επεξεργασία της προκασπάσης-9 σε λειτουργικά ενεργή κασπάση-9. Ακολουθώντας το μηχανισμό διαδοχικών πρωτεολύσεων τύπου καταρράκτη, η ενεργοποιημένη κασπάση-9 πρωτολύει εκλεκτικά την προκασπάση-3 μετατρέποντάς την στην ενζυμικά δραστική της μορφή, κασπάση-3, η οποία και είναι ο κυριότερος ενδοκυτταρικός σηματοδότης της απόπτωσης. Πρέπει να σημειωθεί ότι από τη στιγμή που ξεκινάει η αλυσιδωτή αντίδραση των παραπάνω ενζύμων, η διαδικασία του κυτταρικού θανάτου δεν είναι αναστρέψιμη (Smith et al. 2003) (Σχ.9).

II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η ψωρίαση μια πολύ συχνή δερματική νόσος στην παθογένεια της οποίας συμμετέχει η αγγειογένεση αλλά και διαταραχές της απόπτωσης. Αν προστεθεί και η έλλειψη έρευνας στη δράση των βιολογικών φαρμάκων στα αγγεία της ψωρίασης, αποτελεί πρόκληση η μελέτη της αντίδρασης των τριχοειδών στη θεραπεία με anti-TNF- α παράγοντες. Μελετήσαμε αρχικά, το επιπολής αγγειακό δίκτυο στο θηλώδες χόριο και τις αλλαγές που επισυμβαίνουν στις δερματικές βλάβες ασθενών με ψωρίαση κατά πλάκες. Αυτό έγινε εφικτό μελετώντας την ενεργοποίηση του ενδοθηλίου, την έκφραση των επαγωγέων και αναστολέων της αγγειογένεσης, την διήθηση με κύτταρα της φλεγμονής, τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων καθώς και τις αλλαγές στα αποπτωτικά χαρακτηριστικά των βλαθέντων κυττάρων. Παράλληλα περιγράψαμε την κλινική κατάσταση των ασθενών σε προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα (time points) κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Στόχος μας ήταν να παρατηρήσουμε με ποιον τρόπο η βελτίωση της κλινικής εικόνας και της ποιότητας ζωής των ασθενών αντικατοπτρίζει τις σημαντικές, κατά την εκτίμησή μας, αλλαγές όχι μόνο στα κερατινοκύτταρα αλλά και τα ενδοθηλιακά κύτταρα του ψωριασικού δέρματος πριν και κατά την διάρκεια της θεραπείας με βιολογικό παράγοντα. Σκοπός μας είναι να μελετήσουμε την αγγειογένεση και στοιχεία της απόπτωσης στην ψωρίαση, να διασαφηνίσουμε περισσότερο τα μονοπάτια μέσω των οποίων αυτή πραγματοποιείται, ποιες ουσίες πρωτοστατούν και κατά πόσο όλα αυτά συνδέουν τη αγγειογένεση με τη φλεγμονή στη ψωρίαση. Στόχος είναι η καλύτερη γνώση της παθογένειας της ψωρίασης που θα οδηγήσει σε καινούριες και ακόμη πιο ελπιδοφόρες θεραπευτικές τακτικές.

2. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

2.1 ΥΛΙΚΟ

Το υλικό της παρούσας εργασίας περιελάμβανε 30 ασθενείς της Δερματολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου, οι οποίοι έπασχαν από μέτρια ως σοβαρή ψωρίαση κατά πλάκες. Όλοι οι ασθενείς που μετείχαν στην μελέτη είχαν ενημερωθεί λεπτομερώς για τους σκοπούς της και είχαν δώσει έγγραφη συγκατάθεση για την συμμετοχή τους σε αυτήν. Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε 2 ομάδες (Α και Β) με βάση το θεραπευτικό σχήμα, το οποίο επρόκειτο να λάβουν.

Η ομάδα Α περιελάμβανε δεκαέξι ασθενείς (9 άνδρες, Μ.Ο. ηλικίας 42,6) με μέτρια ως σοβαρή ψωρίαση κατά πλάκες. Δόθηκε ετανερσέπτη υποδορίως 50 mg δύο φορές την εβδομάδα και για δώδεκα εβδομάδες. Η ομάδα Β περιελάμβανε δεκατέσσερις ασθενείς (8 άνδρες, Μ.Ο. ηλικίας 40,3) με μέτρια ως σοβαρή ψωρίαση κατά πλάκες. Δόθηκε αδαλιμουμάμπη υποδορίως 40 mg X 2 την πρώτη φορά, σε μία εβδομάδα 40 mg και στη συνέχεια κάθε δύο εβδομάδες 40 mg υποδορίως και για δεκαπέντε εβδομάδες συνολικά. Όλοι οι ασθενείς έμειναν χωρίς οποιαδήποτε τοπική ή συστηματική θεραπεία για 4 εβδομάδες από την έναρξη της αγωγής και δεν είχαν υποβληθεί στο παρελθόν σε φωτοθεραπεία, φωτοχημειοθεραπεία ή άλλη ανοσοκατασταλτική αγωγή.

Ελήφθησαν βιοψίες από τις δερματικές βλάβες των ασθενών διαμέτρου 5 mm περίπου με ελλειπτική τομή υπό τοπική αναισθησία (xylocaine 2%) ενώ έγινε και προσδιορισμός του δείκτη εκτάσεως και βαρύτητας της νόσου (PASI score, Psoriasis Area and Severity Index) και στις δύο ομάδες των ασθενών προ της έναρξεως της θεραπείας καθώς και μετά από 3, 6 και 10 εβδομάδες αγωγής με ετανερσέπτη και αδαλιμουμάμπη.

Επίσης προ θεραπείας καθώς και ανά μήνα υπό θεραπεία έγινε συστηματικός εργαστηριακός έλεγχος ο οποίος περιελάμβανε γενική αίματος, γενική ούρων, σάκχαρο, ουρία, κρεατινίνη, SGOT, SGPT, γ-GT, ALP, χολερυθρίνη, χοληστερίνη, τριγλυκερίδια, Ca, P, ολικά λευκώματα και λευκωματίνες.

2.2 ΜΕΘΟΔΟΣ

2.2.1 Υπολογισμός του δείκτη βαρύτητας και εκτάσεως της νόσου PASI (Psoriasis Area and Severity Index)

Το σύστημα βαθμονομήσεως PASI (εκφράζεται με αριθμητικές τιμές από 0-72) χρησιμοποιείται κυρίως από τους ιατρούς για την αντικειμενική αξιολόγηση των κλινικών ευρημάτων στην ψωρίαση (Kim et al. 2002). Περιλαμβάνει τον προσδιορισμό της εκτάσεως των προσβεβλημένων περιοχών του σώματος και την βαρύτητα των επί μέρους ψωριασικών βλαβών με βάση το ερύθημα (E), την απολέπιση (Λ) και την διήθηση (Δ) που παρουσιάζουν. Οι περιοχές του σώματος χωρίζονται σε τέσσερα μέρη, το κεφάλι (Κε), τον κορμό (Κο), τα άνω άκρα (Χε) και τα κάτω άκρα (Πο) τα οποία καταλαμβάνουν το 10% (0,1), το 30% (0,3), το 20% (0,2) και το 40% (0,4) της ολικής επιφανείας αντιστοίχως. Οι τιμές αξιολογήσεως της κάθε κλινικής παραμέτρου κυμαίνονται από 1 έως 4 (1=ήπιο, 2=μέτριο, 3=σοβαρό, 4=πολύ σοβαρό). Ο δείκτης PASI υπολογίζεται με βάση τον εξής τύπο:

$$\text{PASI} = 0,1(\text{Εκε} + \text{Λκε} + \text{Δκε})\text{Ακε} + 0,3(\text{Εκο} + \text{Λκο} + \text{Δκο})\text{Ακο} + 0,2(\text{Εχε} + \text{Λχε} + \text{Δχε})\text{Αχε} + 0,4(\text{Επο} + \text{Λπο} + \text{Δπο})\text{Απο}$$

Ο αριθμητικός δείκτης A δίδεται από την έκταση των βλαβών στην κάθε περιοχή (<10% = 1, 10<30% = 2, 30<50% = 3, 50<70% = 4, 70<90% = 5, 90<100% = 6).

2.2.2 Ιστολογική και ανοσοϊστοχημική χρώση

Οι βιοψίες από τις βλάβες των ψωριασικών ασθενών της ομάδας A μονιμοποιήθηκαν σε υδατικό διάλυμα 10% ουδέτερης φορμόλης (pH=7) και εμποτίστηκαν με παραφίνη ενώ της ομάδας B τοποθετήθηκαν αμέσως στους -80 °C.

Ελήφθησαν τομές πάχους 5 μm σε ορισμένες από τις οποίες έγινε χρώση με αιματοξυλίνη-εωσίνη προς επιβεβαίωση της διάγνωσης ενώ σε όλες τις άλλες έγινε ανοσοϊστοχημική χρώση για την ανίχνευση των πρωτεϊνών για την ομάδα A : CD31, VEGF, TSP-1 NF-κB, Bcl-2, Bcl-xL και για την ομάδα B: ICAM-1, VCAM-1, E-selectin

Ανοσοϊστοχημική μέθοδος ανιχνεύσεως πρωτεϊνών CD31, VEGF, TSP-1 NF-κB, Bcl-2, Bcl-xL ICAM-1, VCAM-1, E-selectin

Τομές πάχους 5 μm υπεβλήθησαν σε αποπαραφινολοποίηση (εκτός των αντισωμάτων ICAM-1, VCAM-1, E-selectin οι οποίες τομές ελήφθησαν με ψυκτικό κρυοτόμο και τοποθετήθηκαν στους -80 °C με την διαδικασία της ανοσοϊστοχημείας να είναι η ίδια μετά την επώαση των υπόλοιπων αντισωμάτων) αφυδατώθηκαν σε διάλυμα αιθυλικής αλκοόλης προοδευτικώς ελαττωμένης πυκνότητας. Μετά την παραμονή των τομών επί 5 λεπτά σε φούρνο μικροκυμάτων και σε διάλυμα 0,01M κιτρικού οξέος, ακολούθησε επώασή τους με τα μονοκλωνικά αντισώματα σε θερμοκρασία δωματίου ακολουθώντας την διαδικασία του kit Ultravision LP Detection System

with AP Polymer and Fast Red chromogen (LabVision/Neomarkers Fremont, California, USA) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Τα μονοκλωνικά αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν: anti-Bcl-xL (Cell Signaling Technology, Hertfordshire, UK) (1:50 dilution), anti-NF-κB (Cell Signaling Technology) (1:50 dilution), anti-Bcl-2 (Dako Cytomation, Glostrup, Denmark) (1:100 dilution), anti-CD31 (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, California, USA) (1:100 dilution), anti-VEGF (Santa Cruz) (1:100 dilution), anti-TSP-1 (Calbiochem, Darmstadt, Germany) (1:100 dilution), anti-ICAM-1 (Dako) (1:5000 dilution), anti-VCAM-1 (Dako) (1:5000 dilution) και anti-E-selectin (Santa Cruz) (1:2500 dilution). Οι τομές καλύφθηκαν με Corbit oil και καλυπτρίδα.

Terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)-mediated dUTP nick-end labelling (TUNEL)

Η τεχνική TUNEL πραγματοποιήθηκε σε αποπαραφινωποιημένες και αφυδατωμένες βιοπτικές τομές. Η μέθοδος στηρίζεται στην ειδική σύνδεση του ενζύμου τελική δεσοξυνουκλεοτιδυλο τρανσφεράση [TdT (Terminal deoxynucleotidyl transferase)] με τα 3'-OH άκρα των θραυσμάτων του DNA και την ενσωμάτωση τριφωσφορικής δεσοξουριδίνης συνδεδεμένης με βιοτίνη (βιοτινυλιωμένη dUTP) στις εγκοπές του DNA. Χρησιμοποιήθηκε το kit In Situ Cell Death Detection kit AP (Roche, Giffl-Oberfrick, Switzerland) σύμφωνα με τις προδιαγραφές του κατασκευαστή.

Μέθοδος TUNEL

Οι τεχνικές εντόπισης των αποπτωτικών κυττάρων βασίζονται σε μορφολογικές παρατηρήσεις, βιοχημικές και ανοσοϊστοχημικές μεθόδους και στην ανίχνευση του κατακερματισμένου DNA *in situ*. Η απόπτωση χαρακτηρίζεται βιοχημικά από κατακερματισμό του DNA των κυττάρων σε ενδονουκλεοσωματικές θέσεις προκαλώντας έτσι τη δημιουργία πολυμερών που αποτελούνται από 180-200 ζεύγη βάσεων, όταν αυτά αναλύονται με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης. Ο κατακερματισμός του DNA μπορεί να παρατηρηθεί σε ένα κύτταρο *in situ*, αν γίνει σήμανση του πυρήνα, χρησιμοποιώντας μια ιστοχημική τεχνική, όπως η μέθοδος TUNEL (TdT mediated DUTP biotin nick end labeling). Η τεχνική βασίζεται στη σύνδεση του ενζύμου deoxynucleotidyltransferase (TdT) με τα 3'-OH άκρα των θραυσμάτων του DNA και στην προσθήκη βιοτινυλιωμένου νουκλεοτιδίου στις θέσεις εντομής. Με αυτήν την τεχνική το τελικό άκρο των τμημάτων του DNA είναι ελεύθερο, επιτρέποντας έτσι την ανίχνευση της βιοτίνης, χρησιμοποιώντας μια χρώση αβιδίνης-υπεροξειδάσης. Ο κατακερματισμός του DNA ανιχνεύεται σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις που υπάρχουν οι μορφολογικές αλλαγές που σχετίζονται με την απόπτωση, εκτός από εκείνες στα κατώτερα σπονδυλωτά.

Διπλή χρώση ανοσοφθορισμού για VEGF και CD31 και confocal imaging

Κατεψυγμένες τομές κόπηκαν σε ψυκτικό κρυοτόμο και τοποθετήθηκαν σε θετικά φορτισμένες αντικειμενοφόρες πλάκες (Superfrost). Ακολούθησε μονιμοποίηση σε ακετόνη (Fluka) για 10 λεπτά και πλύσιμο με παγωμένο ρυθμιστικό διάλυμα PBS (Phosphate Buffered Saline) (Sigma). Για την κάλυψη των μη ειδικών θέσεων πρόσδεσης οι τομές επώαστηκαν με διάλυμα 1% BSA (Sigma) σε PBS για 30 λεπτά. Στη συνέχεια προστέθηκε μείγμα των πρωτογενών αντισωμάτων VEGF (Santa Cruz) και CD31 (Dako) σε αραιώση 1:100 για 1 ώρα. Μετά το τέλος της επώασης, οι τομές πλύθηκαν εις τριπλούν με PBS και προστέθηκε μείγμα των δευτερογενών αντισωμάτων (AlexaFluor 555 goat anti-rabbit IgG- Molecular Probes και Goat anti-mouse IgG Fluorescein conjugated secondary antibody- Millipore) σε αραιώση 1:200 για 1 ώρα. Όλα τα αντισώματα αραιώθηκαν σε διάλυμα 1% BSA σε PBS και όλες οι επώσεις έγιναν σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολούθησε πλύσιμο με PBS και κάλυψη των τομών με UltraCruz mounting medium (Santa Cruz). Η παρατήρηση των δειγμάτων έγινε με τη χρήση συνεστιακού μικροσκοπίου (Leica, Wetzlar, Germany)

Αξιολόγηση των ανοσοϊστοχημικών αποτελεσμάτων και στατιστική μελέτη

Οι βιοπτικές τομές τυχαιοποιήθηκαν και εκτιμήθηκαν κάτω από το οπτικό μικροσκόπιο (Leitz Laborlux optical microscope, Leica). Τραβήχτηκαν μικροφωτογραφίες και αναλύθηκαν ψηφιακά με το πρόγραμμα Image-Pro Plus 6.0 για θετικά κύτταρα στα αντισώματα NF-κB, Bcl-2, Bcl-xL, VEGF, TSP-1, ICAM-1, VCAM-1, E-selectin και CD31. Υπολογίστηκαν οι μέσες τιμές, η τυπική απόκλιση (SD) και το σφάλμα του μέσου όρου (SEM) των θετικών κυττάρων ανά mm² θηλώδους χορίου των ψωριασικών βλαβών. Υπολογίστηκαν επίσης οι λόγοι των NF-

κB-, Bcl-2-, Bcl-xL-, VEGF- και TSP-1-θετικών /CD-31-θετικών ενδοθηλιακών κυττάρων ανά mm² . Η στατιστική ανάλυση έγινε με το t-test for paired samples χρησιμοποιώντας το πρόγραμμα SPSS 16.0. Οι τιμές του P κάτω από 0,05 θεωρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 ΚΛΙΝΙΚΑ

3.1.1 Αποτελεσματικότητα

Όλοι οι ασθενείς ολοκλήρωσαν θεραπεία 12 και 15 εβδομάδων με ετανερσέπτη και αδαλιμουμάμπη αντίστοιχα. Στους πίνακες 5 και 6 παρουσιάζονται οι τιμές του PASI score προ καθώς και 3, 6 και 10 εβδομάδες μετά την έναρξη της θεραπείας. Στην ομάδα A ήδη από την τρίτη εβδομάδα παρατηρείται μια προοδευτική μείωση της μέσης τιμής του PASI score σε σχέση με την αντίστοιχη προ θεραπείας (45,81%). Με την συμπλήρωση και της δέκατης εβδομάδος θεραπείας η μέση τιμή του PASI score μειώθηκε κατά 88,82%. Κανένας ασθενής δεν παρουσίασε επιδείνωση της κλινικής εικόνας κατά την διάρκεια της θεραπείας. Από τους 16 ασθενείς που έλαβαν ετανερσέπτη, οι 4 (ποσοστό 25%) εμφάνισαν σημαντική βελτίωση (μείωση του PASI score κατά 50%) την 3^η εβδομάδα, οι 9 (ποσοστό 56,25%) την 6^η εβδομάδα και οι 12 (ποσοστό 75%) την 10^η εβδομάδα (Πίν.5, Εικ.12).

Επίσης και στην ομάδα B ήδη από την τρίτη εβδομάδα παρατηρείται μια προοδευτική μείωση της μέσης τιμής του PASI score σε σχέση με την αντίστοιχη προ θεραπείας (43,24%). Με την συμπλήρωση και της δέκατης εβδομάδος θεραπείας η μέση τιμή του PASI score μειώθηκε κατά 88,11%. Κανένας ασθενής δεν παρουσίασε επιδείνωση της κλινικής εικόνας κατά την διάρκεια της θεραπείας. Από τους 14 ασθενείς που έλαβαν ετανερσέπτη, οι 4 (ποσοστό 21%) εμφάνισαν σημαντική βελτίωση (μείωση του PASI score κατά 50%) την 3^η εβδομάδα, οι 9 (ποσοστό 50%) την 6^η εβδομάδα και οι 12 (ποσοστό 78,6%) την 10^η εβδομάδα (Πίν.6, Εικ.13).

3.1.2. Ανεπιθύμητες ενέργειες

Ομάδα Α: Όλοι οι ασθενείς διεκπεραίωσαν την μελέτη ενώ μόνο μία παρενέργεια καταγράφηκε, αυτή της οξείας αμυγδαλίτιδας με ήπια κλινική εικόνα και μικρή διάρκεια.

Ομάδα Β : Όλοι οι ασθενείς διεκπεραίωσαν την μελέτη χωρίς να καταγραφεί καμία παρενέργεια εκτός από την αύξηση των τιμών των λιπιδίων σε 4 ασθενείς.

3.2 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ

Τρεις ασθενείς της ομάδος Β παρουσίασαν άνοδο της τιμής της χοληστερόλης του ορού (κατά 25%-60% της αρχικής τιμής προ θεραπείας) και ένας αύξηση της τιμής των τριγλυκεριδίων του ορού (συγκεκριμένα από 125mg/dl προ θεραπείας, σε 350 mg/dl στο τέλος της 6ης εβδομάδος). Στους παραπάνω ασθενείς δόθηκε ανιλιπιδαιμική αγωγή ενώ οι εργαστηριακές τιμές απεκατεστάθησαν στο φυσιολογικό εντός δύο εβδομάδων από την διακοπή της θεραπείας. Στους ασθενείς της ομάδας Α δεν παρατηρήθηκαν διαταραχές στις εργαστηριακές παραμέτρους.

3.3 ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΑ

3.3.1 Ομάδα Α

Σημειώθηκε σημαντική μείωση της αγγειοβρίθειας του ανώτερου χορίου μετά από την θεραπεία με ετανερσέπτη όπως αυτή αντικατοπτρίζεται μέσα από την μείωση του CD31 που αποτελεί έναν αξιόπιστο ενδοθηλιακό δείκτη (Εικ.1). Την 10^η εβδομάδα μετά την έναρξη της θεραπείας διαπιστώθηκε μείωση κατά 65,3% της εκφράσεως του CD31 στο ανώτερο χόριο ($p < 0.001$). Ταυτόχρονα μετρήθηκαν οι αυλοί των αγγείων πριν και κατά την διάρκεια της θεραπεία και επίσης παρατηρηρήθηκε μείωση της αγγειοβρίθειας (Εικ.4).

Μελετήθηκε επίσης ο ρόλος του αγγειογενετικού παράγοντα VEGF και παρατηρήθηκε μία αυξανόμενη μείωση κατά την διάρκεια της θεραπείας της έκφρασης του VEGF στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η μέση τιμή έκφρασής του μειώθηκε κατά 81,6% την 10^η εβδομάδα ($p < 0.001$) με τον λόγο VEGF/CD31 να σημειώνει εξίσου στατιστικώς σημαντική μείωση ($p < 0.001$) (Εικ.6, Πίν.7).

Αξίζει να σημειωθεί ότι η μείωση του λόγου VEGF/CD31 δεν είναι τόσο έντονη όσο μόνο του VEGF πιθανότατα λόγω της ταυτόχρονης μείωσης και των αγγείων (CD31) στα οποία εκφράζεται.

Η διπλή χρώση ανοσοφθορισμού για VEGF και CD31 που έγιναν σε ψωριασικές βλάβες και η confocal μικροσκοπία που ακολούθησε έδειξαν μείωση της έκφρασης του VEGF στα ενδοθηλιακά κύτταρα του ανώτερου χορίου (Εικ.7).

Όσο αναφορά τον αντιαγγειογενετικό παράγοντα TSP-1 σημειώθηκε αύξηση της μέσης τιμής έκφρασής του στα ενδοθηλιακά κύτταρα κατά 52,7% την 10^η εβδομάδα ($p < 0.001$). Αύξηση σημείωσε και ο λόγος TSP-1/CD31 κατά την διάρκεια της θεραπείας με μεγαλύτερη εκείνη της 10^{ης} εβδομάδας κατά 52,66% ($p < 0.001$) (Εικ.6, Πίν.7).

Με σκοπό να μελετήσουμε αν η απόπτωση παίζει κάποιο ρόλο στην συρρίκνωση της αγγειοβρίθειας κατά την διάρκεια της θεραπείας με ετανερσέπτη μελετήθηκαν κάποιες από τις πρωτεΐνες που συμμετέχουν στην αποπτωτική διαδικασία ενώ παράλληλα πραγματοποιήθηκε και η τεχνική TUNEL που βοηθά παρά τους όποιους περιορισμούς της στην ανίχνευση στοιχείων του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου. Βρέθηκε λοιπόν ότι η θεραπεία με ετανερσέπτη είχε σαν αποτέλεσμα την αύξηση των TUNEL-θετικών κυττάρων στο θηλώδες χόριο των ψωριασικών βλαβών σε όλη την διάρκεια της θεραπείας (Εικ.8).

Σημαντικές πρωτεΐνες που συμμετέχουν στον καταρράκτη της απόπτωσης όπως οι NF-κB, Bcl-2, Bcl-xL μελετήθηκαν επίσης στα πλαίσια της θεραπείας με ετανερσέπτη. Βρέθηκε στατιστικώς σημαντική μείωση της έκφρασης των πρωτεϊνών αυτών στα ενδοθηλιακά κύτταρα του ανώτερου χορίου των ψωριασικών βλαβών με την μεγαλύτερη μείωση να σημειώνεται την 10^η εβδομάδα. Πιο συγκεκριμένα παρατηρήθηκε μείωση της έκφρασης των NF-κB, Bcl-2, Bcl-xL κατά 78,7%, 79,3%, και 78,2% αντίστοιχα την 10^η εβδομάδα συγκριτικά με την έναρξη της θεραπείας ($p < 0.001$). Παρόμοια στατιστικώς σημαντική μείωση σημείωσαν και οι λόγοι NF-κB/CD31, Bcl-2/CD31 and Bcl-xL/CD31 ($p < 0.001$) (Εικ.6, Πίν.7).

3.3.2 Ομάδα Β

Παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της έκφρασης των μορίων προσκολλητικότητας στα ενδοθηλιακά κύτταρα κατά την διάρκεια της θεραπείας με αδαλιμουμάμπη γεγονός που αποδεικνύει την μείωση της ενεργοποίησης του ενδοθηλίου που συνοδεύει την μείωση της αγγειοβρίθειας στο θηλώδες χόριο. Πιο συγκεκριμένα:

ICAM-1

Μείωση της έκφρασης του ICAM-1 στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Ο μέσος όρος των ενδοθηλιακών κυττάρων κατά οπτικό πεδίο που είχαν θετική χρώση μειώθηκε από $20,51 \pm 1,08$ προ θεραπείας σε $15,75 \pm 2,01$ την 3 εβδομάδα, σε $13,70 \pm 2,50$ την 6η εβδομάδα και σε $7,92 \pm 1,55$ την 10η εβδομάδα ($p < 0.001$) (Εικ.9).

VCAM-1

Ο μέσος όρος των ενδοθηλιακών κυττάρων κατά οπτικό πεδίο που είχαν θετική χρώση μειώθηκε από $21,43 \pm 1,08$ προ θεραπείας σε $15,33 \pm 1,31$ την 3 εβδομάδα, σε $13,85 \pm 2,20$ την 6η εβδομάδα και σε $7,61 \pm 2,05$ την 10η εβδομάδα ($p < 0.001$) (Εικ.10).

E-selectin

Παρατηρήθηκε μείωση της έκφρασης του E-selectin στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Ο μέσος όρος των ενδοθηλιακών κυττάρων κατά οπτικό πεδίο που είχαν θετική χρώση μειώθηκε από $18,42 \pm 2,33$ προ θεραπείας σε $13,65 \pm 2,79$ την 3 εβδομάδα, σε $13,43 \pm 1,60$ την 6η εβδομάδα και σε $9,68 \pm 1,58$ την 10η εβδομάδα ($p < 0.001$) (Εικ.11).

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η ψωρίαση θεωρείται μια νόσος των ενεργοποιημένων T-λεμφοκυττάρων που χαρακτηρίζεται από τον υπέρμετρο πολλαπλασιασμό κερατινοκυττάρων αλλά και την αυξημένη αγγειακή κυτταροβρίθεια στο ανώτερο χόριο (Hern S et al. 2005). Οι βασικές ιστολογικές αλλοιώσεις του ψωριασικού δέρματος είναι η επιδερμидική υπερπλασία, η συσσώρευση T-λεμφοκυττάρων, μονοκυττάρων και ουδετερόφιλων αλλά και η ανάπτυξη του επιπολής αγγειακού δικτύου στο θηλώδες χόριο. Αυτή η ανάπτυξη πραγματοποιείται κάτω από την επίδραση της αγγειογένεσης, που φαίνεται να παίζει πρωταγωνιστικό ρόλο από νωρίς στην παθογένεια της ψωρίασης. Η αγγειογένεση ανταποκρίνεται στις αυξημένες μεταβολικές ανάγκες του ψωριασικού δέρματος (Folkman et al. 1995). Η επιβίωση των νεόδητων αγγείων εξαρτάται από την επαγωγή των οδών της κυτταρικής επιβίωσης και την καταστολή της απόπτωσης. Η μελέτη αυτή σημειώνει ότι η θεραπεία με ετανερσέπτη αλλά και αδαλιμουμάμπη, δύο anti-TNF-α βιολογικούς τροποποιητές, πιθανόν να συντονίζει την αγγειογενετική διαδικασία στην ψωρίαση μέσα από την καταστολή των αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών όπως των Bcl-2 και Bcl-xL ακολουθώντας την αναστολή του μεταγραφικού παράγοντα NF-κB αλλά και την καταστολή των μορίων προσκολλητικότητας ICAM-1, VCAM-1 και E-selectin.

Ο TNF-α παράγεται κυρίως από ενεργοποιημένα μακροφάγα και T-λεμφοκύτταρα ως απάντηση σε διάφορες λοιμώξεις και ποικίλες φλεγμονώδεις διεργασίες. Με την πρόσδεση στον TNFR1, ο TNF σε μερικά κύτταρα ενεργοποιεί τους παράγοντες μεταγραφής NF-κB και AP-1, οδηγώντας στην επαγωγή φλεγμονωδών και ανοσορυθμιστικών γονιδίων, ενώ σε άλλες κυτταρικές σειρές έχει διαπιστωθεί ότι προάγει την απόπτωση (Tartaglia & Goeddel 1992). Σε αντίθεση όμως με το FasL-

Fas, η απλή σύζευξη TNF-TNFR1 σπανίως πυροδοτεί τους αποπτωτικούς μηχανισμούς, εκτός και εάν ανασταλεί η πρωτεϊνσύνθεση. Το εύρημα αυτό υποδηλώνει την ύπαρξη κυτταρικών πρωτεϊνικών παραγόντων οι οποίοι καταστέλλουν το αποπτωτικό ερέθισμα του TNF-α (Wehrli et al. 2000). Η σύνδεση του TNF-α με τον TNFR1 οδηγεί στον τριμερισμό του υποδοχέα και την σύζευξη των ενδοκυττάρων περιοχών θανάτου (DD). Ακολουθεί προσέλευση του προσαρμογέα TRADD (TNFR-associated death domain protein), ο οποίος συνδέεται, μέσω των δικών του περιοχών θανάτου, με τις περιοχές θανάτου του υποδοχέα. Ο TRADD στη συνέχεια, αλληλεπιδρά με α. τους μεταγωγείς σημάτων TRAF2 (TNFR-associated factor 2) και RIP (receptor-interacting protein), οι οποίοι διεγείρουν μεταβολικές οδούς ενεργοποίησης των μεταγραφικών παραγόντων JNK/AP-1 και NF-κB αντίστοιχα, προάγοντας την κυτταρική επιβίωση και β. τον FADD, ο οποίος συμβάλλει στην έναρξη των αποπτωτικών μηχανισμών μέσω ενεργοποίησης της κασπάσης 8 (Σχ.8) (Madge et al. 1999, Inoue et al. 2000, Malagarie-Cazenave et al. 2002, Micheau and Tschopp 2003).

Το ψωριασικό δέρμα επιδεικνύει έναν έντονο πολλαπλασιασμό κερατινοκυττάρων και χαρακτηρίζεται από την σημαντική αντίσταση στα αποπτωτικά σήματα. (Takahashi et al. 2002). Έχει βρεθεί ότι ο TNF-α δύναται άμεσα να επάγει αντιαποπτωτικές πρωτεΐνες σε διάφορα είδη κυττάρων όπως τα ενδοθηλιακά κύτταρα, κερατινοκύτταρα και μακροφάγα (Takada et al. 2006). Ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίον ο anti-TNF-α επάγει την απόπτωση δεν είναι απολύτως κατανοητός (Kruger-Krasagakis et al. 2006). Μελέτες περιγράφουν ότι ο αποκλεισμός του TNF-α καταστέλλει την παραγωγή αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών όπως η survivin και το Bcl-2 (Markham et al. 2006). Στην παρούσα μελέτη η απόπτωση στα νεόδημητα αγγεία φαίνεται να έχει προκληθεί από την ετανερσέπτη

όπως αποδεικνύεται από την τεχνική TUNEL αλλά και από την μείωση στην έκφραση των NF-κB, Bcl-2 και Bcl-xL στα ενδοθηλιακά κύτταρα κατά την διάρκεια της θεραπείας.

Ένας από τους πιθανούς μηχανισμούς μείωσης της αγγειοβρίθειας στο θηλώδες χόριο είναι η καταστολή του TNF-α με συνέπεια την καταστολή του μονοπατιού του NF-κB αλλά και των αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών Bcl-2 και Bcl-xL, με τελικό αποτέλεσμα την έναρξη της απόπτωσης.

Επίσης στη μελέτη αυτή έχει βρεθεί μείωση των CD31-θετικών ενδοθηλιακών κυττάρων, γεγονός που αντικατοπτρίζει την μείωση της αγγειοβρίθειας στις ψωριασικές βλάβες. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να εξηγηθεί και από την μείωση του αγγειογενετικού παράγοντα VEGF αλλά και την αύξηση του αντιαγγειογενετικού παράγοντα TSP-1 στα ενδοθηλιακά κύτταρα των νεόδμητων αγγείων που έχει βρεθεί στην ανοσοϊστοχημική μας μελέτη. Έχει βρεθεί *in vitro*, ότι ο VEGF επάγει την μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων μέσω της επαγωγής του υποδοχέα της φμπρονεκτίνης ανβ3 και των ενδοθηλιακών υποδοχέων κολλαγόνου α1β1 και α2β1 (Senger et al. 1996) ενώ *in vivo*, ότι ο VEGF επάγει την αγγειογένεση και την μικροαγγειακή διαπερατότητα. Αντίθετα ο TSP-1 έχει βρεθεί ότι καταστέλλει την αγγειογένεση με την πρόσδεσή του σε πρωτεΐνες της θεμέλιας ουσίας, σε υποδοχείς της επιφάνειας των ενδοθηλιακών κυττάρων και ιντεγκρίνες (Nickoloff et al. 1994). Τα αποτελέσματά μας είναι σύμφωνα με τις παραπάνω μελέτες και αποδεικνύουν ότι η ρύθμιση των αγγειογενετικών και αποπτωτικών παραγόντων μέσω της anti-TNF-α θεραπείας είναι ικανή να μειώσει τα νεόδητα αγγεία των ψωριασικών βλαβών. Η θεραπεία με ετανερσέπτη φαίνεται να μειώνει τον κύριο αγγειογενετικό παράγοντα VEGF αλλά ταυτόχρονα να αυξάνει τον πιο γνωστό αντιαγγειογενετικό παράγοντα

TSP-1, με αποτέλεσμα την συρρίκνωση των νεοσχηματισμένων αγγείων της ψωρίασης.

Παράλληλα σημειώνεται μια σημαντική μείωση στην έκφραση των μορίων προσκολλητικότητας ICAM-1, VCAM-1 και E-selectin., από τα ενδοθηλιακά κύτταρα του νεόδητου ενδοθηλίου των ψωριασικών βλαβών κατά την διάρκεια θεραπείας με έναν άλλον anti-TNF- α παράγοντα την αδαλιμουμάμπη . Αυτό μεταφράζεται σε αντίστοιχη απενεργοποίηση του ενδοθηλίου που συνοδεύει την ίαση των ψωριασικών βλαβών κατά την διάρκεια της αγωγής.

Όπως είναι γνωστό τα T-λεμφοκύτταρα εξέρχονται από τα αγγεία και μετακινούνται στην επιδερμίδα υπό την επίδραση των ακόλουθων μηχανισμών: αλληλεπίδραση του CLA των T λεμφοκυττάρων με την E-σελεκτίνη που υπερεκφράζεται στα νεόδητα αγγεία της ψωρίασης, αλληλεπίδραση των LFA-1, VLA-4 (very late antigen-4) των T-λεμφοκυττάρων με τα μόρια ICAM-1 και VCAM-1 αντίστοιχα, που βρίσκονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα των αγγείων αυτών. Επίσης όταν αρχίζει η ωρίμανση των κυττάρων Lagerhans κατά την οποία αποκτούν αυξημένη ικανότητα να διεγείρουν την T κυτταρική ενεργοποίηση μέσω αυξημένης σύνθεσης μορίων επιφανείας όπως τα CD80, CD40, και ICAM-1, στη συνέχεια μεταναστεύουν στους λεμφαδένες που παροχετεύουν το δέρμα (Krueger et al. 2002) . Τέλος για να γίνει η T κυτταρική ενεργοποίηση απαιτούνται συνδιεγερτικά μόρια, όπως π.χ. το LFA-1 και το CD2 πάνω στο T-λεμφοκύτταρο και το ICAM-1 και το LFA-3 αντίστοιχα, πάνω στο αντιγονοπαρουσιαστικό κύτταρο (Griffiths 2003). Από τα αποτελέσματα της μελέτης φαίνεται καθαρά κατά την διάρκεια της θεραπείας με τον anti-TNF- α παράγοντα η μείωση στην έκφραση των μορίων προσκολλητικότητας ICAM-1, VCAM-1 και E-σελεκτίνης στα αγγεία του θηλώδους χορίου των ψωριασικών βλαβών με αποτέλεσμα την επακόλουθη διαταραχή στην παρουσίαση και ενεργοποίηση των T-

λεμφοκυττάρων όπως και στην μετανάστευση και μετακίνησή τους μέσω των αγγείων στην επιδερμίδα. Έτσι τα T-λεμφοκύτταρα δυσχεραίνονται να πλησιάσουν την επιδερμίδα και να επάγουν εκεί την απελευθέρωση κυτοκινών υπευθύνων για την ψωρίαση (Σχ.10).

Είναι γνωστή εδώ και χρόνια η άριστη ανταπόκριση της anti-TNF-α θεραπείας στην μέτρια και σοβαρή ψωρίαση κατά πλάκες αλλά ο ακριβής παθοφυσιολογικός μηχανισμός δεν είναι απόλυτα γνωστός (Nelson et al. 2006). Στην παρούσα μελέτη, παρέχουμε επιπλέον πληροφορίες για την επίδραση της ετανερσέπτης και αδαλιμουμάμπης στα αγγεία της ψωρίασης και τους μηχανισμούς μείωσης της αγγειοβρίθειας κατά την διάρκεια της θεραπείας. Στο μέλλον στο στόχαστρο της θεραπείας της ψωρίασης ίσως να βρεθούν τα νεόδητα αγγεία στα πλαίσια της αντιαγγειογενετικής στρατηγικής ενάντια σ' αυτήν την χρόνια και επίμονη δερματική νόσο.

5. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ψωρίαση είναι μια συχνή, χρόνια φλεγμονώδη δερματοπάθεια που προσβάλλει περίπου το 2% του πληθυσμού, με διακυμάνσεις μεταξύ των φυλών. Για παράδειγμα ο επιπολασμός στις Σκανδιναβικές χώρες και γενικότερα τη Βόρεια Ευρώπη είναι αρκετά μεγάλος ενώ συναντάται σπάνια στους Ιάπωνες και τους Ινδιάνους της Αμερικής. Η ψωρίαση αποτελεί σπάνια αιτία θανάτου, επηρεάζει όμως πολύ σοβαρά την ποιότητα ζωής των ασθενών με συνέπειες στη σωματική και ψυχική τους υγεία. Εδώ και χρόνια έχει αποδειχθεί ότι η επίδραση της ψωρίασης στην ποιότητα ζωής του ασθενούς είναι τουλάχιστον εξίσου σημαντική με εκείνη της στεφανιαίας νόσου, του σακχαρώδη διαβήτη και της χρόνιας αποφρακτικής πνευμονοπάθειας. Νόσος μεγάλης κοινωνικοοικονομικής σημασίας, καθώς το 30% των ασθενών χρειάζονται θεραπεία δεύτερης γραμμής ενώ το 40% περίπου των δερματολογικών κλινικών καταλαμβάνεται από ψωριασικούς ασθενείς. Πραγματοποιείται λοιπόν, αγώνας δρόμου για την κατανόηση των αιτίων και των παθογενετικών μηχανισμών της ψωρίασης που θα ανοίξει τον δρόμο για την ανακάλυψη ακόμη πιο εξειδικευμένων φαρμάκων «στόχου» (targeted therapies).

Αν και είναι πλέον γεγονός η αναγνώριση της ψωρίασης ως ένα αυτοάνοσο νόσημα που ακολούθησε την ανακάλυψη του κυρίαρχου ρόλου των T-λεμφοκυττάρων στην παθογένειά της, η προεξέχουσα θέση που κατέχει η αυξημένη αγγειοβρίθεια στο θηλώδες χόριο, καθιστά τη ψωρίαση, ταυτόχρονα, και νόσο νεοαγγειακά εξαρτώμενη.

Στη καρκινογένεση, η αγγειογένεση έχει τον πρώτο ρόλο, γεγονός που δεν έχει αποδειχθεί ότι ισχύει και στη ψωρίαση. Ωστόσο μια περαιτέρω διασαφήνιση των βιοχημικών μονοπατιών της αγγειογένεσης στη δερματολογική αυτή νόσο εκ των

ωφελούντων, την βοήθεια δηλαδή των καινοτόμων βιολογικών θεραπειών, ίσως οδηγήσει στην ανακάλυψη καινούργιων θεραπευτικών τακτικών.

ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗ

Ο όρος αγγειογένεση περιγράφει τον σχηματισμό νέων αγγείων (τριχοειδών) από προϋπάρχοντα αγγεία (τριχοειδή και μετατριχοειδικά φλεβίδια). Φυσιολογικά απαντάται κατά την αναγέννηση του ενδομητρίου, κατά το σχηματισμό κοκκιώδους ιστού σε φλεγμονή και τραυματισμό, κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης καθώς και κατά την εμβρυογένεση.

Σύμφωνα με την “υπόθεση ισορροπίας” (Balance hypothesis), η αγγειογένεση ρυθμίζεται από την ισορροπία ανάμεσα σε παράγοντες προαγωγικούς ή αγγειογενετικούς και παράγοντες ανασταλτικούς ή αντιαγγειογενετικούς

Στους αγγειογενετικούς παράγοντες περιλαμβάνονται οι: Vascular Endothelial

Growth Factor (VEGF), Epithelial Growth Factor (EGF), basic Fibroblast Growth Factor (bFGF), Platelet Derived Endothelial Cell Growth Factor (PD-ECGF), Tumor Growth Factor β (TGF β), Tumor Necrosis Factor α (TNF α), αγγειογενίνη, κυκλοοξυγενάση, διάφορες μεταλλοπρωτεϊνάσες, αγγειακές ιντεγκρίνες, ιντερλευκίνες 1, 4, 6, 8, 15 κ.ά. Στους αντιαγγειογενετικούς παράγοντες περιλαμβάνονται οι: θρομβοσπονδίνη, αγγειοστατίνη, ενδοστατίνη, αιμοπεταλιακός παράγων 4, ιστικοί αναστολείς των μεταλλοπρωτεϊνάσων TIMP 1 και 2, ιντερφερόνη, ιντερλευκίνη 12 κ.ά.

Η διαδικασία που συμβαίνει με την πυροδότηση των αγγειογενετικών μηχανισμών συντονίζεται μέσω της έκκρισης κυτταρικών παραγόντων τόσο από τα ίδια τα ενδοθηλιακά κύτταρα όσο και από τα βλαθέντα κερατινοκύτταρα .

Τα πιο σημαντικά σημεία στην αγγειογένεση είναι:

1. Αλληλεπίδραση της αγγειοποιητίνης-2 με τον υποδοχέα Tie-2 του ενδοθηλίου με αποτέλεσμα την αποσταθεροποίηση του αγγείου και την αποδιοργάνωση των περικυττάρων.
2. Ενεργοποίηση του ενδοθηλίου. Με την επίδραση και του παράγοντα VEGF, αυξάνει η διαπερατότητα του ενδοθηλίου ώστε διάφορες πρωτεΐνες να εξαγγειωθούν στο μεσεγχυματικό περιαγγειακό χώρο.
3. Πολλαπλασιασμός των ενδοθηλιακών κυττάρων υπό την επίδραση ισχυρών αγγειογενετικών παραγόντων (VEGF, FGF, EGF).
4. Μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων με βασικό ρόλο αυτόν της ιντεγκρίνης $\alpha_v\beta_3$.
5. Ανακατασκευή του ενδοθηλίου και μεσοκυττάρια επαφή με την έκφραση της VE-Cadherin.
6. Σχηματισμός του πρωτογενή αγγειακού αυλού που χαρακτηρίζει τα νεόπλαστα τριχοειδή.
7. Σχηματισμός των νέων αγγείων, με τα μεσεγχυματικά κύτταρα, υπό την επίδραση του παράγοντα PDGF και της αγγειοποιητίνης-2, να πολλαπλασιάζονται και να ακολουθούν τα ενδοθηλιακά κύτταρα
8. Σταθεροποίηση των νεόδμητων αγγείων με τη διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών κυττάρων σε περικύτταρα υπό την επίδραση του TGF- β και οργάνωσή τους γύρω από τα νέα αγγεία.

Οι ιστοπαθολογικές αλλαγές κλειδιά στη ψωρίαση είναι η υπερακάνθωση, η παρακεράτωση, η λέπτυνση της επιδερμίδας άνω των θηλών του χορίου (suprapapillary thinning), η φλεγμονώδης διήθηση κυρίως με T-λεμφοκύτταρα,

μονοκύτταρα και ουδετερόφιλα καθώς και η αυξημένη αγγειοβρίθεια του θηλώδους χορίου .

Στο φυσιολογικό δέρμα το επιπολής αγγειακό δίκτυο αποτελείται από τριχοειδικές αγκύλες (capillary loops) που προέρχονται από τα τελικά αρτηριόλια του εν τω βάθει (horizontal) αρτηριοφλεβικού πλέγματος. Στη ψωρίαση οι τριχοειδικές αυτές αγκύλες κάτω από το οπτικό μικροσκόπιο παρατηρούνται διασταλμένες, επιμηκυσμένες ενώ η τριχοειδοσκόπηση καταδεικνύει ξεκάθαρα και την οφιοειδή πορεία τους. Η ανοσοϊστοχημεία και η μελέτη των αποτελεσμάτων της με τεχνικές image analysis σε βλαθέντα ιστό καθώς και σε υγιές δέρμα ψωριασικών ασθενών, αποδεικνύουν τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων αλλά μόνο του επιπολή αρτηριοφλεβικού πλέγματος ενώ το εν τω βάθει παραμένει φυσιολογικό.

Μελέτες υποστηρίζουν ότι αυτές οι αγγειακές αλλαγές πραγματοποιούνται νωρίς στην ανάπτυξη των ψωριασικών βλαβών ακόμη και όταν η υπερκείμενη επιδερμίδα είναι φυσιολογική. Η Doppler Ροομετρία δείχνει αυξημένη αιματική ροή του δέρματος γύρω από τις βλάβες ενώ η ανοσοϊστοχημεία ότι ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων και ο πληθυσμός των λευκοκυττάρων είναι ακόμη αμετάβλητοι.

Οι τριχοειδικές αγκύλες (capillary loops) που προέρχονται από τα τελικά αρτηριόλια, έχουν τα χαρακτηριστικά φλεβιδίων με οπές στο ενδοθήλιο και με μόνο- ή πολύστιβη βασική μεμβράνη. Η επικρατούσα θεωρία για την «φλεβοποίηση» των αρτηριολίων είναι ότι ο πολλαπλασιασμός των ενδοθηλιακών κυττάρων με σκοπό να θρέψουν τις ψωριασικές επιμηκυσμένες δερματικές θηλές, γίνεται στην «φλεβική» άκρη του επιπολή αρτηριοφλεβικού δικτύου με αποτέλεσμα να εκτοπίζουν σιγά –σιγά το «αρτηριακό» άκρο. Έτσι όλα τα νέα κύτταρα που δημιουργούνται και σχηματίζουν τα νεόδητα αγγεία να έχουν φλεβικό φαινότυπο και να είναι επιμηκυσμένα με οφιοειδή σχήμα.

Εδώ θα πρέπει να σημειώσουμε την ενεργό συμμετοχή των αγγείων στη παθογένεια της ψωρίασης. Η ψωρίαση ως αυτοάνοσο νόσημα χαρακτηρίζεται από διήθηση του χορίου και της επιδερμίδας με Τ-λεμφοκύτταρα. Τα Τ-λεμφοκύτταρα στις ψωριασικές βλάβες είναι ενεργοποιημένα Τ-λεμφοκύτταρα..

Αρχικά πραγματοποιείται η πρώτη ενεργοποίηση των Τ-λεμφοκυττάρων όταν αυτά συνδέονται με τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APC), μέσω αλληλεπιδράσεων των μορίων της επιφάνειας των δύο κυττάρων. Τα APCs είναι δενδριτικά κύτταρα τα οποία αφού επεξεργαστούν ενζυμικά το αντιγόνο, μεταναστεύουν από το δέρμα μέσω των λεμφικών οδών στους λεμφαδένες.

Στους λεμφαδένες τα Τ-λεμφοκύτταρα ενεργοποιούνται, διαφοροποιούνται, πολλαπλασιάζονται και εκκρίνουν διάφορες κυτοκίνες. Στη συνέχεια ενεργοποιημένα Τ-λεμφοκύτταρα εισέρχονται στην κυκλοφορία του αίματος και μεταναστεύουν και πάλι στο δέρμα. Στη διαδικασία προσκόλλησης και μετανάστευσης των λευκοκυττάρων, κύριο ρόλο παίζουν τα μόρια προσκόλλησης που εκφράζονται στη κυτταρική μεμβράνη των ενδοθηλιακών κυττάρων. Έχει περιγραφεί ότι υπεύθυνα για την προσκόλληση των λευκοκυττάρων επί του ενδοθηλίου είναι κυρίως τα μόρια ICAM-1, VCAM-1 και η E-Selectin .

Τα Τ-λεμφοκύτταρα με την επιστροφή τους στο δέρμα ξαναενεργοποιούνται με αποτέλεσμα την περαιτέρω παραγωγή προφλεγμονωδών κυτοκινών όπως IL-2, IFN γ και TNF- α . Ακολουθεί η ενεργοποίηση των ενδογενών κυττάρων του δέρματος όπως των κερατινοκυττάρων, με αποτέλεσμα τον πολλαπλασιασμό τους και τη παραγωγή κυτοκινών και χυμοκινών. Ανάμεσα σε αυτά σημαντική θέση κατέχουν και οι αγγειογεννητικοί παράγοντες με σημαντικότερο όλων, τον παράγοντα VEGF.

Καθώς ο TNF- α επάγει, μεταξύ άλλων, και τη παραγωγή MCP-1 (monocyte chemotactic protein 1) από τα κερατινοκύτταρα, αυτό ευνοεί την είσοδο

μονοκυττάρων από την κυκλοφορία στο δέρμα με την επακόλουθη συμμετοχή τους στις φλεγμονώδεις διεργασίες της ψωρίασης.

Μέχρι τώρα δεν έχει μελετηθεί διεξοδικά η συμπεριφορά των αγγείων του ψωριασικού δέρματος στη μονοθεραπεία με βιολογικό τροποποιητή εκτός δύο μελετών. Η πρώτη αφορά το μονοπάτι Ang/Tie2 (Trevor Markham et al. 2006), η οποία έγινε σε 16 ασθενείς και με την βοήθεια της ανοσοϊστοχημείας και RT-PCR κατέληξε στο συμπέρασμα ότι ταυτόχρονα με τη θεαματική βελτίωση των ψωριασικών βλαβών, παρατηρήθηκε και μείωση της κυτταρικής διήθησης στο θηλώδες χόριο, μείωση της έκφρασης των Tie2 υποδοχέα και VEGF καθώς και μείωση του πολλαπλασιαστικού δυναμικού των ενδοθηλιακών κυττάρων.

Η δεύτερη μελέτη αφορά την έκφραση της αντιαποπτωτικής πρωτεΐνης survivin στα κερατινοκύτταρα και το ενδοθήλιο πριν και μετά από θεραπεία με ινφλιξιμάμπη, (Marcham et al. 2006) όπου βρέθηκε μεγάλη αύξηση στην έκφραση της survivin στα κερατινοκύτταρα και περιαγγειακά στο θηλώδες χόριο. Μετά την θεραπεία βρέθηκε ότι ακολούθησε δραστική μείωση στην έκφρασή της.

Μία τρίτη έρευνα αξιολόγησε την απενεργοποίηση του ενδοθηλίου και την μείωση της αγγειογένεσης σε ψωριασικές βλάβες και αρθρικό υμένα αλλά μετά από συνδυασμό θεραπείας με ινφλιξιμάμπη και μεθοτρεξάτη, (Goedkoop et al. 2004), αποδίδοντας την ύφεση αυτή στην μειωμένη έκφραση του VEGF.

Ο σκοπός της εργασίας είναι να μελετήσει την επίδραση της βιολογικής θεραπείας στην αγγειοβρίθεια του χορίου, εξετάζοντας την έκφραση των αγγειογενετικών και αντιαγγειογενετικών παραγόντων, την ενεργοποίηση του ενδοθηλίου καθώς και την κυτταροβρίθεια σε ενδοθηλιακά κύτταρα και μακροφάγα

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

30 ασθενείς με μέτρια έως σοβαρή ψωρίαση κατά πλάκες αξιολογήθηκαν σε αυτή τη μελέτη (μέσος όρος ηλικίας 41,5 ετών, 17 άνδρες). Οι ασθενείς εξετάστηκαν κλινικά και αξιολογήθηκαν με το PASI score (Psoriasis Area and Severity Index) στις χρονικές στιγμές 0, 3, 6 και 10η εβδομάδα. Για μια χρονική περίοδο 4 εβδομάδων οι ασθενείς δεν έλαβαν καμία τοπική ή συστηματική αντιψωριασική αγωγή. Η ετανερσέπτη δόθηκε υποδορίως για 12 εβδομάδες και η αδαλιμουμάμπη υποδορίως για 15 εβδομάδες.

Δείγματα ιστών ελήφθησαν με ελλειπτική χειρουργική τομή από κλινικά υγιές δέρμα στην 0 εβδομάδα και από ψωριασικό δέρμα κατά τις χρονικές στιγμές 0, 3η, 6η και 10η εβδομάδα θεραπείας

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Οι κλινικές και εργαστηριακές παράμετροι βελτιώθηκαν μετά την αγωγή 12 και 15 εβδομάδων με ετανερσέπτη και αδαλιμουμάμπη αντίστοιχα.

VEGF

Μείωση της έκφρασης του VEGF στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Ο μέσος όρος των ενδοθηλιακών κυττάρων κατά οπτικό πεδίο που είχαν θετική χρώση μειώθηκε από 30.82 ± 0.65 προ θεραπείας σε 17.51 ± 0.50 την 3 εβδομάδα, σε 13.44 ± 0.47 την 6η εβδομάδα και σε 5.68 ± 0.29 την 10η εβδομάδα ($p=0.001$).

TSP1

Αύξηση της έκφρασης του TSP1 στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Ο μέσος όρος των ενδοθηλιακών κυττάρων κατά οπτικό πεδίο που είχαν θετική χρώση αυξήθηκε από

5.33 ± 0.31 προ θεραπείας σε 9.93 ± 0.45 την 3 εβδομάδα, σε 11.02 ± 0.22 την 6η εβδομάδα και σε 11.26 ± 0.56 την 10η εβδομάδα ($p=0.001$).

ICAM-1

Μείωση της έκφρασης του ICAM-1 στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Ο μέσος όρος των ενδοθηλιακών κυττάρων κατά οπτικό πεδίο που είχαν θετική χρώση μειώθηκε από 20.51 ± 1.08 προ θεραπείας σε 15.75 ± 2.01 την 3 εβδομάδα, σε 13.70 ± 2.50 την 6η εβδομάδα και σε 7.92 ± 1.55 την 10η εβδομάδα ($p=0.001$).

VCAM-1

Μείωση της έκφρασης του VCAM-1 στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Ο μέσος όρος των ενδοθηλιακών κυττάρων κατά οπτικό πεδίο που είχαν θετική χρώση μειώθηκε από 21.43 ± 1.08 προ θεραπείας σε 15.33 ± 1.31 την 3 εβδομάδα, σε 13.85 ± 2.20 την 6η εβδομάδα και σε 7.61 ± 2.05 την 10η εβδομάδα ($p=0.001$).

E-selectin

Μείωση της έκφρασης του E-selectin στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Ο μέσος όρος των ενδοθηλιακών κυττάρων κατά οπτικό πεδίο που είχαν θετική χρώση μειώθηκε από 18.42 ± 2.33 προ θεραπείας σε 13.65 ± 2.79 την 3 εβδομάδα, σε 13.43 ± 1.60 την 6η εβδομάδα και σε 9.68 ± 1.58 την 10η εβδομάδα ($p=0.001$).

CD31

Μείωση της έκφρασης του CD31 στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Ο μέσος όρος των ενδοθηλιακών κυττάρων κατά οπτικό πεδίο που είχαν θετική χρώση μειώθηκε από 34.06 ± 1.20 προ θεραπείας σε 24.84 ± 0.86 την 3 εβδομάδα, σε 20.93 ± 0.52 την 6η εβδομάδα και σε 11.82 ± 0.57 την 10η εβδομάδα ($p=0.001$).

NF-κB, Bcl-2, Bcl-xL

Σημαντικές πρωτεΐνες που συμμετέχουν στον καταρράκτη της απόπτωσης όπως οι NF-κB, Bcl-2, Bcl-xL μελετήθηκαν επίσης στα πλαίσια της θεραπείας με

ετανερσέπτη. Βρέθηκε στατιστικώς σημαντική μείωση της έκφρασης των πρωτεϊνών αυτών στα ενδοθηλιακά κύτταρα του ανώτερου χορίου των ψωριασικών βλαβών με την μεγαλύτερη μείωση να σημειώνεται την 10^η εβδομάδα. Πιο συγκεκριμένα παρατηρήθηκε μείωση της έκφρασης των NF-κB, Bcl-2, Bcl-xL κατά 78,7%, 79,3%, και 78,2% αντίστοιχα την 10^η εβδομάδα συγκριτικά με την έναρξη της θεραπείας ($p < 0.001$). Παρόμοια στατιστικώς σημαντική μείωση σημείωσαν και οι λόγοι NF-κB/CD31, Bcl-2/CD31 and Bcl-xL/CD31 ($p < 0.001$).

Επίσης πραγματοποιήθηκε διπλή χρώση ανοσοφθορισμού για VEGF και CD31 που έγιναν σε ψωριασικές βλάβες και η confocal μικροσκοπία που ακολούθησε έδειξαν μείωση της έκφρασης του VEGF στα ενδοθηλιακά κύτταρα του ανώτερου χορίου.

Με σκοπό να μελετήσουμε αν η απόπτωση παίζει κάποιο ρόλο πραγματοποιήθηκε και η τεχνική TUNEL. Βρέθηκε λοιπόν ότι η θεραπεία με ετανερσέπτη είχε σαν αποτέλεσμα την αύξηση των TUNEL-θετικών κυττάρων στο θηλώδες χόριο των ψωριασικών βλαβών σε όλη την διάρκεια της θεραπείας.

Στην παρούσα μελέτη, παρέχουμε επιπλέον πληροφορίες για την επίδραση της ετανερσέπτης και αδαλιμουμάμπης στα αγγεία της ψωρίασης και τους μηχανισμούς μείωσης της αγγειοβρίθειας κατά την διάρκεια της θεραπείας. Στο μέλλον ίσως να βρεθούν στο στόχαστρο της θεραπείας της ψωρίασης τα νεόδημα αγγεία, στα πλαίσια της αντιαγγειογενετικής στρατηγικής ενάντια σ' αυτήν την χρόνια αλλά τόσο επίμονη δερματική νόσο.

6. SUMMARY

Psoriasis is a chronic inflammatory skin disease characterized by hyperproliferation of epidermal cells with prominent blood vessels and a perivascular lymphocytic infiltrate. Although psoriasis is considered mainly a lymphocyte driven disease, the abnormal vascular proliferation within papillary dermis suggests that disease manifestation is accompanied by blood vessel alterations. These alterations are influenced by angiogenesis, which is considered an active vasoproliferative process observed as an early response to psoriatic inflammation. Tumour necrosis factor (TNF)- α is a proinflammatory cytokine that can induce antiapoptotic proteins and endothelial cell activation factors in psoriasis.

The present study investigated the effect of the anti-TNF- α agent etanercept on the expression of endothelial nuclear factor- κ B (NF- κ B), angiogenic vascular endothelial growth factor (VEGF), endothelial cell marker CD31, antiangiogenic factor thrombospondin-1 (TSP-1), antiapoptotic factors Bcl-2 and Bcl-xL, adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1 and E-Selectin, in psoriasis.

Thirty patients with moderate to severe psoriasis were included in the study and treated 16 of them with etanercept 50 mg twice weekly subcutaneously for 12 weeks and the other 14 patients with adalimumab 40mg every 15 days subcutaneously for 15 weeks. Biopsies of lesional skin (baseline, weeks 3, 6 and 10) were obtained and immunohistochemically stained with antibodies for CD31, VEGF, TSP-1 NF- κ B, Bcl-2, Bcl-xL, ICAM-1, VCAM-1 and E-Selectin. Double immunofluorescence staining for VEGF and CD31 was evaluated with confocal laser microscopy. The terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labelling (TUNEL) assay was applied for apoptosis detection.

These anti-TNF biologics caused a statistically significant time-dependent reduction in the number of dermal blood vessels, the number of CD31+ cells, and VEGF in psoriatic lesions, with induction of endothelial cell apoptosis and statistically significant upregulation of TSP-1 in psoriatic vessels. Immunohistochemical analysis showed significant reduction of NF- κ B, Bcl-2, Bcl-xL, ICAM-1, VCAM-1 and E-Selectin expression in endothelial cells during treatment. These changes were accompanied by a marked clinical response.

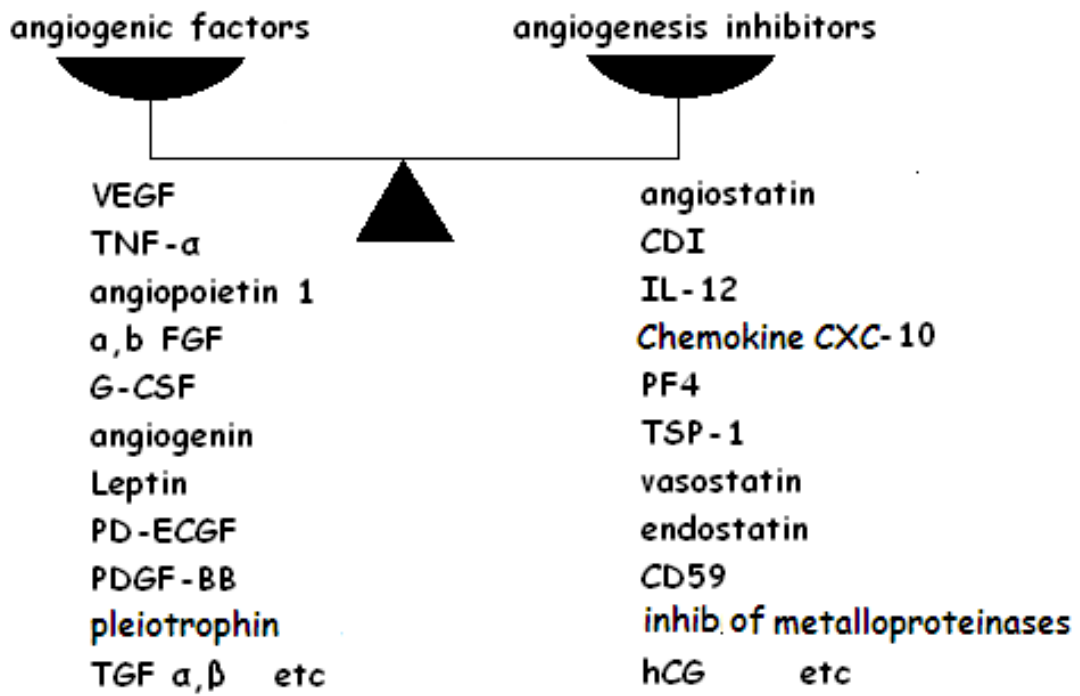
The present findings suggest that treatment with anti-TNF therapy induces apoptosis, reduces apoptosis-inhibiting factors and adhesion molecules in psoriatic endothelial cells, and decreases angiogenesis in psoriatic skin.

7. ΠΙΝΑΚΕΣ

Πίνακας 1. Καταγραφή των γονιδιακών επιτόπων που συμμετέχουν στην παθογένεση της ψωρίασης και των αντίστοιχων βιβλιογραφικών αναφορών (Guilhou et al. 2008)

Γονιδιακός Επίτοπος Βιβλιογραφικές αναφορές		Γονιδιακός Επίτοπος Βιβλιογραφικές αναφορές	
1p32.3 PSORS7	Veal et al, 2001	8q24	Trembath et al, 1997 Lee et al, 2000
1q21 PSORS4	Capon et al, 1999 Bhalerao and Bowcock, 1998	9q33-q34	Sun et al, 2007
2p14-p22	Trembath et al, 1997 Veal et al, 2001 Bhalerao and Bowcock, 1998	12q14	Trembath et al, 1997 Samuelson et al, 1999
3q21 PSORS5	Enlund et al, 1999 Samuelson et al, 1999	14q32	Trembath et al, 1997 Veal et al, 2001
4q13	Bhalerao and Bowcock, 1998	15q11	Samuelson et al, 1999
4q31	Zhang et al, 2002 Samuelson et al, 1999	16q12	Nair et al, 1997 Trembath et al, 1999
4q34 PSORS3	Matthews et al, 1996	17q25 PSORS2	Tomfohrde et al, 1994 Matthews et al, 1996 Nair et al, 1997 Bhalerao and Bowcock, 1998 Enlund et al, 1999 Samuelson et al, 1999
6p21.3 PSORS1	Tomfohrde et al, 1994 Nair et al, 1997 Trembath et al, 1997 Bhalerao and Bowcock, 1998 Enlund et al, 1999 Samuelson et al, 1999 Lee et al, 2000 Veal et al, 2001 Zhang et al, 2002	18p11	Veal et al, 2001 Samuelson et al, 1999 Asumalahti et al, 2003
6q	Nair et al, 1997	19p12 PSORS6	Veal et al, 2001 Lee et al, 2000
7q21	Veal et al, 2001	20p12	Nair et al, 1997 Trembath et al, 1997 Bhalerao and Bowcock, 1998
		21	Lee et al, 2000

Πίνακας 2. Η θεωρία της ισορροπίας. Αγγειογενετικοί και αντιαγγειογενετικοί παράγοντες.



Πίνακας 3. Γονίδια που ενέχονται στον αποπτωτικό μηχανισμό

*Επαγωγικά*Γονίδια οικογένειας *ICE**ced-3, ced-4**fas, fas ligand**bax, bak, bok, bik**bcl-xS, bad, bid**bim, nip3, nix**Αναστολείς**ced-9**bcl-2, bcl-xL, bcl-w**mcl-1, crmA, nrl-3**Παράγοντες μεταγραφής**p53**p21/waf**c-myc**c-fos**jun**cdc25*

Πίνακας 4. Οι υποδοχείς της οικογένειας TNF και οι υποκαταστάτες που συνδέονται με αυτούς.

Υποδοχέας (receptor)	Άλλη ονομασία	Υποκαταστάτης (ligand)
Fas	CD95, APO-1	Fas ligand, CD95L, APO-1L
DR4	TRAIL-R1	TRAIL, APO-2L
DR5	TRAIL-R2	TRAIL, APO-2L
DR3	APO-3, WSL-1, TRAMP, LARD	APO-3L
DcR1	TRAIL-R3, TRID, LIT	TRAIL, APO-2L
DcR2	TRAIL-R4	TRAIL, APO-2L
TNFR1	-	TNF α , Lymphotoxin α
TNFR2	-	TNF α , Lymphotoxin α
LT- β R	-	Lymphotoxin β
CD40	-	CD40L, CD154, TRAP, gp39
CD30	-	CD30L
CD27	-	CD27L, CD70
NGF-R1	-	NGF

Πίνακας 5. Ομάδα Α. Οι τιμές του PASI score προ καθώς και 3, 6, και 10 εβδομάδες μετά την έναρξη της θεραπείας

	BL	w3	w6	w10
PASI (mean±SD)	17.9 ± 3	9.7 ± 3	6.2 ± 2.7	2 ± 1.2
PASI 50	-	4/16 (25%)	9/16 (56.25%)	12/16 (75%)
Mean PASI improvement (%)	-	45.81%	65.36%	88.82%

Πίνακας 6. Ομάδα Β. Οι τιμές του PASI score προ καθώς και 3, 6, και 10 εβδομάδες μετά την έναρξη της θεραπείας

	BL	w3	w6	w10
PASI (mean±SD)	18.5 ± 3	10,5 ± 2.3	7,3 ± 2.9	2.2 ± 1.8
PASI 50	-	3/14 (21%)	7/14 (50%)	11/14 (78.6%)
Mean PASI improvement (%)	-	43.24%	65.54%	88.11%

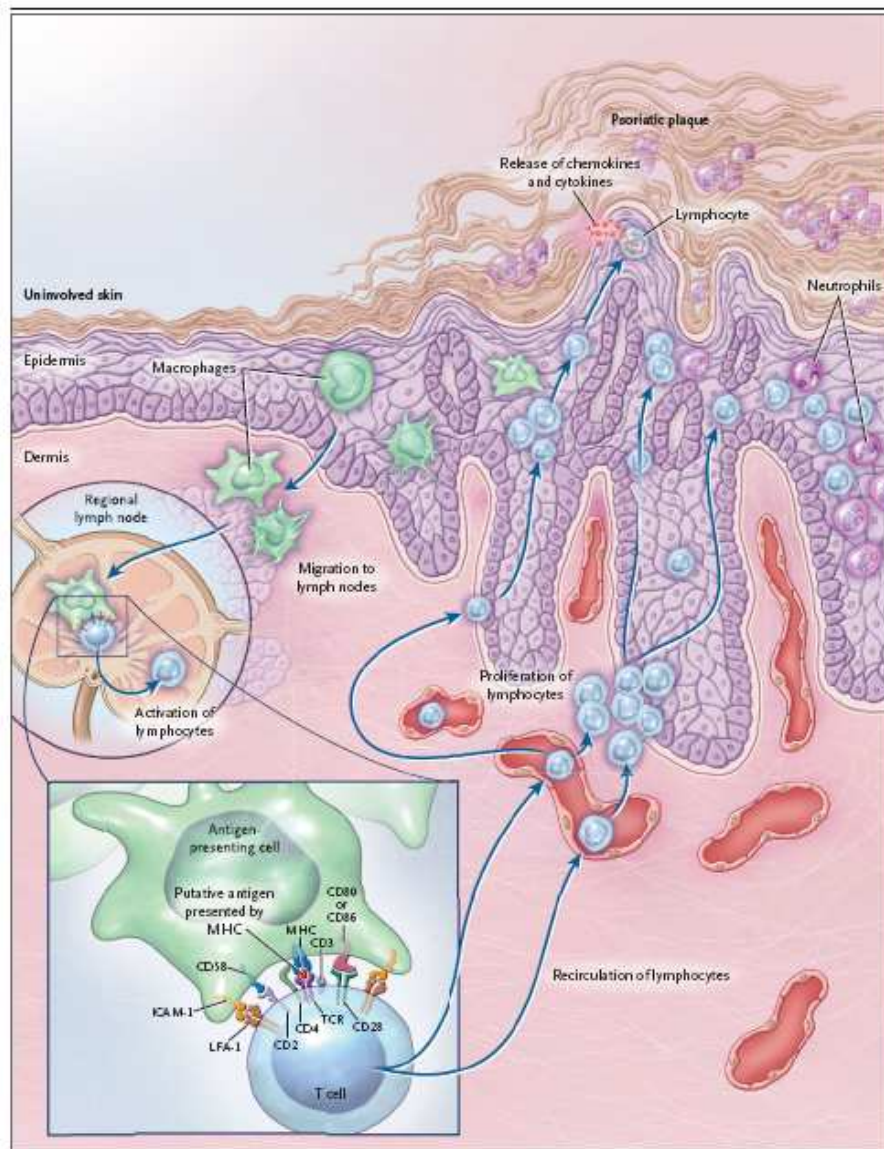
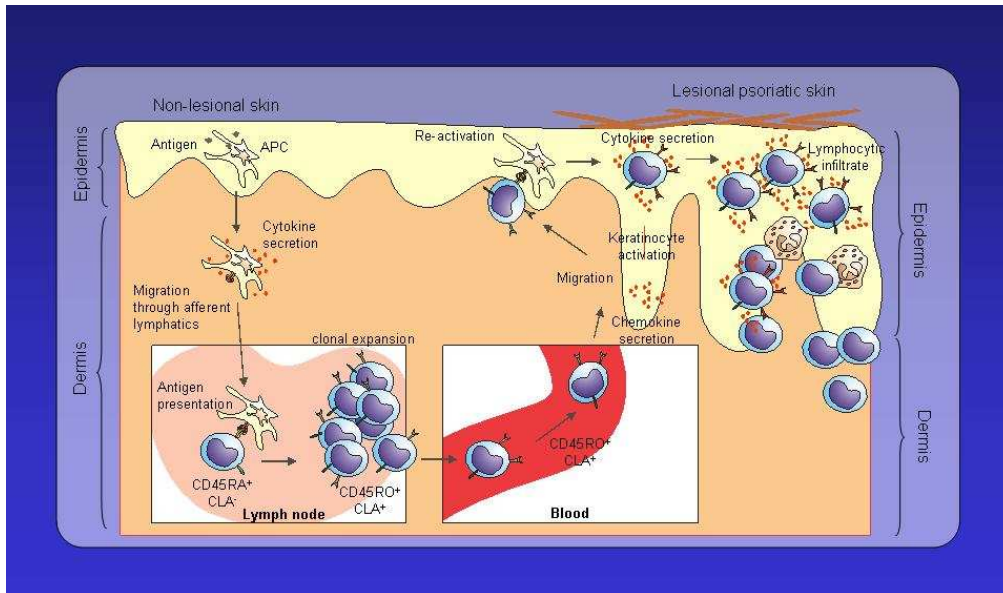
Πίνακας 7. Αριθμός ενδοθηλιακών κυττάρων (mean \pm SEM), θετικών στη χρώση του αντίστοιχου αντισώματος CD31, VEGF, TSP-1, NF- κ B, Bcl-2 και Bcl-xL αλλά και των λόγων VEGF/CD31, TSP-1/CD31, NF- κ B/CD31, Bcl-2/CD31 και Bcl-xL/CD31 ratios (mean \pm SEM) κατά την διάρκεια της θεραπείας.

	Προ θεραπείας	3 ^η εβδομάδα	6 ^η εβδομάδα	10 ^η εβδομάδα
CD31	34.06 \pm 1.20	24.84 \pm 0.86***	20.93 \pm 0.52***	11.82 \pm 0.57***
VEGF	30.82 \pm 0.65	17.51 \pm 0.50***	13.44 \pm 0.47***	5.68 \pm 0.29***
VEGF/CD31	0.92 \pm 0.041	0.71 \pm 0.03**	0.64 \pm 0.02***	0.49 \pm 0.03***
TSP-1	5.33 \pm 0.31	9.33 \pm 0.45***	11.02 \pm 0.22***	11.26 \pm 0.56***
TSP-1/CD31	0.16 \pm 0.01	0.38 \pm 0.02***	0.53 \pm 0.03***	0.98 \pm 0.06***
NF- κ B	26.42 \pm 0.45	17.97 \pm 0.65***	14.15 \pm 0.46***	5.64 \pm 0.36***
NF- κ B /CD31	0.78 \pm 0.02	0.73 \pm 0.03	0.68 \pm 0.03*	0.48 \pm 0.03***
Bcl-2	23.57 \pm 0.62	16.11 \pm 0.36***	11.57 \pm 0.45***	4.88 \pm 0.35***
Bcl-2/CD31	0.70 \pm 0.03	0.65 \pm 0.02	0.55 \pm 0.02**	0.42 \pm 0.03***
Bcl-xL	26.37 \pm 0.70	16.46 \pm 0.51***	12.62 \pm 0.59***	5.73 \pm 0.40***
Bcl-xL /CD31	0.78 \pm 0.03	0.67 \pm 0.03*	0.60 \pm 0.03***	0.49 \pm 0.03***

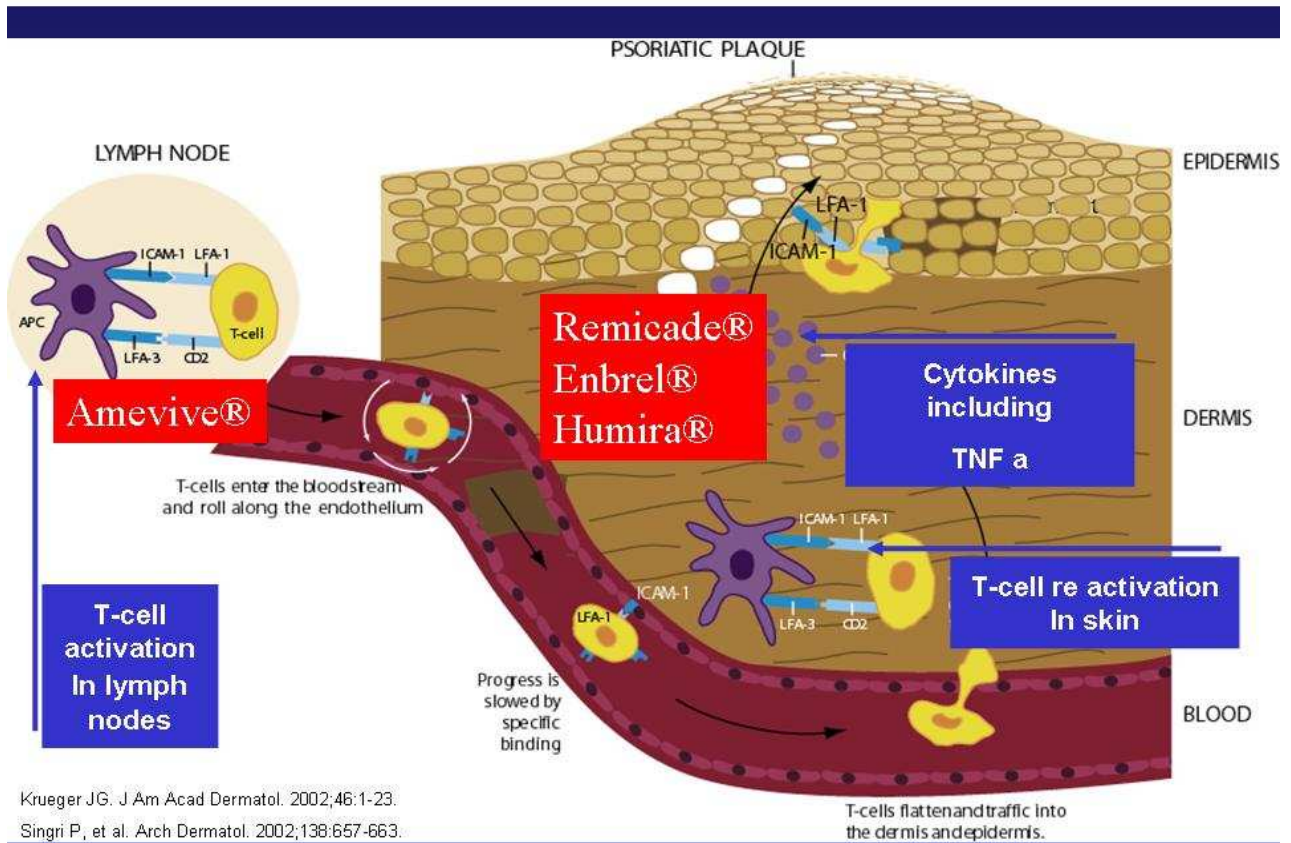
Statistically significant differences of values at respective weeks compared to baseline are indicated by (*) at the level of $p < 0.05$, (**) at the level of $p < 0.01$, and by (***) at the level of $p < 0.001$.

8. ΣΧΗΜΑΤΑ

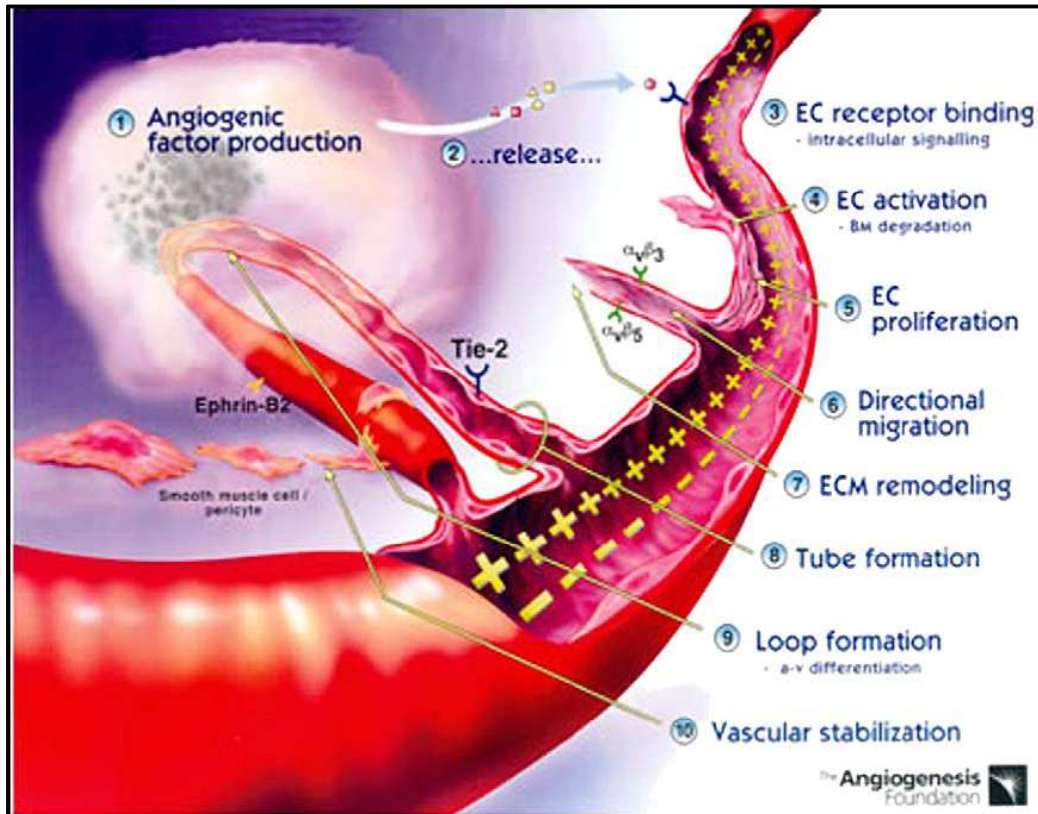
Σχήμα 1. Η παθογένεια της ψωρίασης (Mehlis and Gordon 2003 and Krueger 2002).



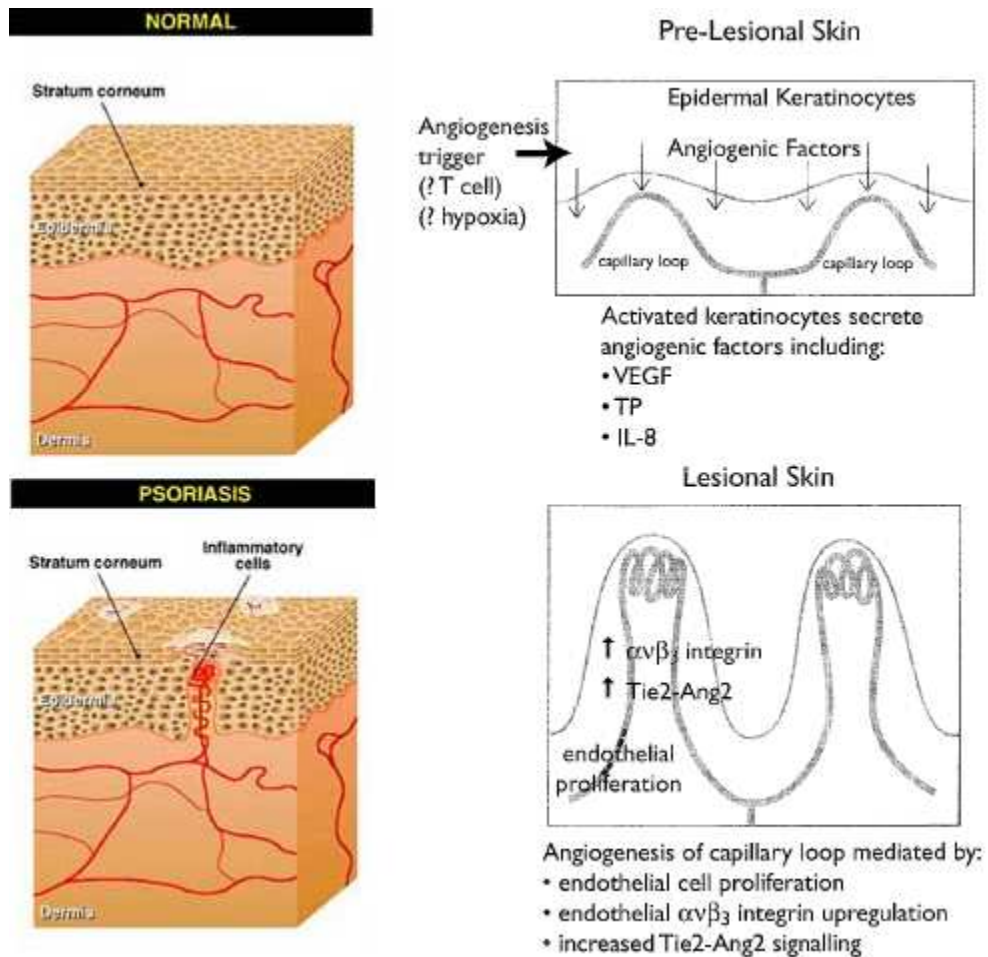
Σχήμα 2. Αναχαίτιση της ψωρίασης από τους βιολογικούς παράγοντες.



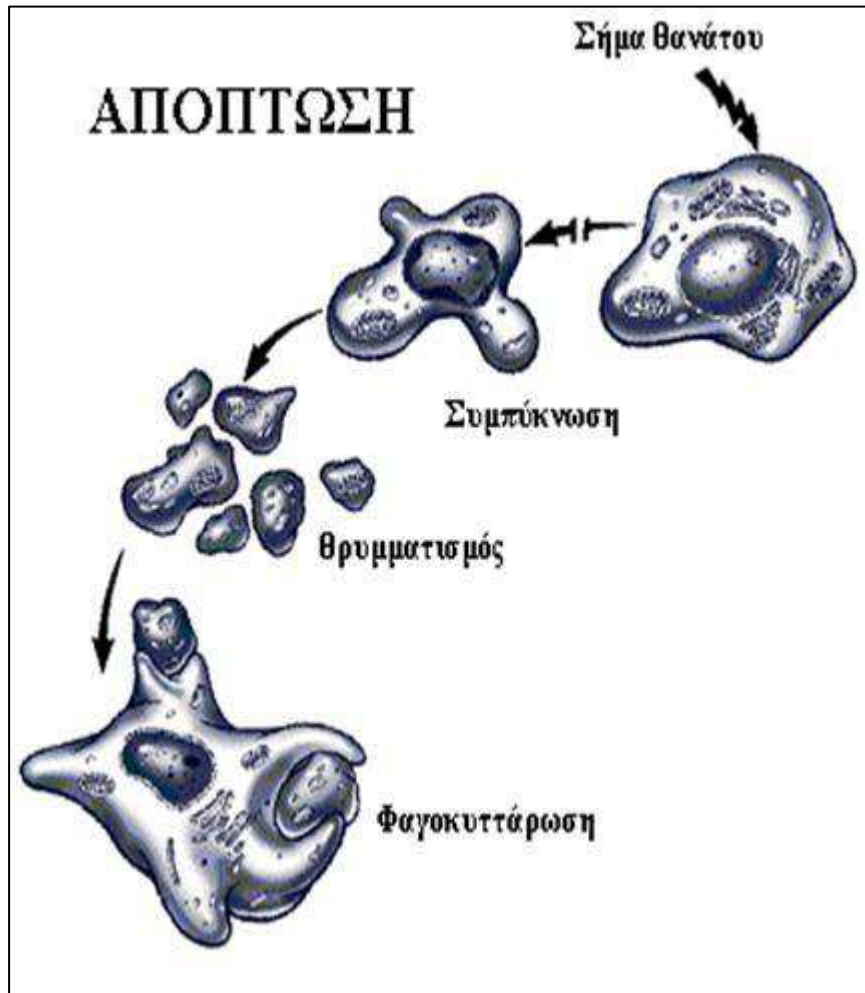
Σχήμα 3. Ο μηχανισμός της αγγειογένεσης.



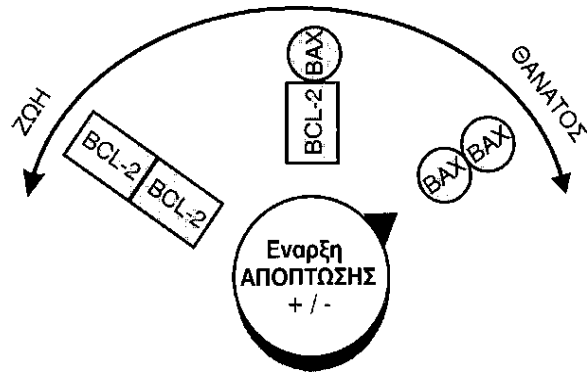
Σχήμα 4. Η αγγειοβρίθεια στην ψωρίαση.



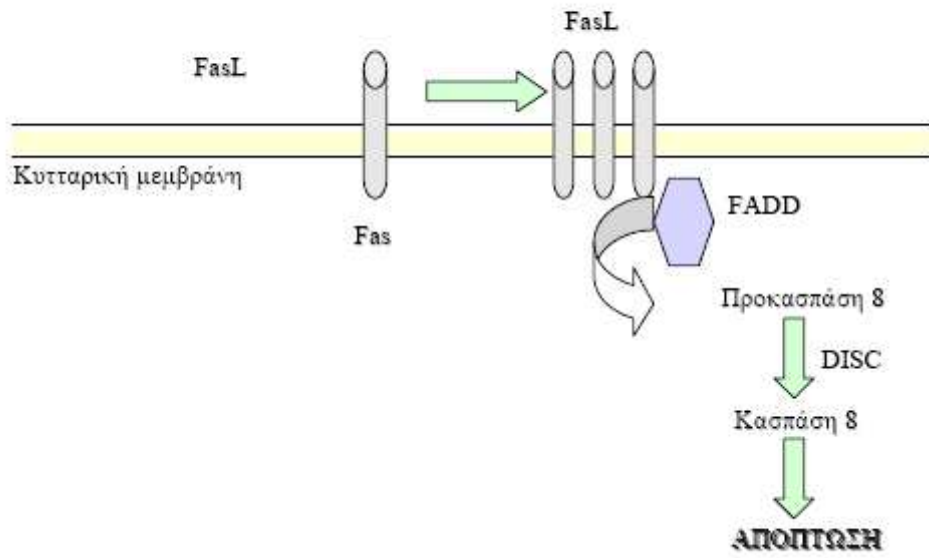
Σχήμα 5. Μορφολογικές αλλαγές κατά τη διάρκεια της απόπτωσης.



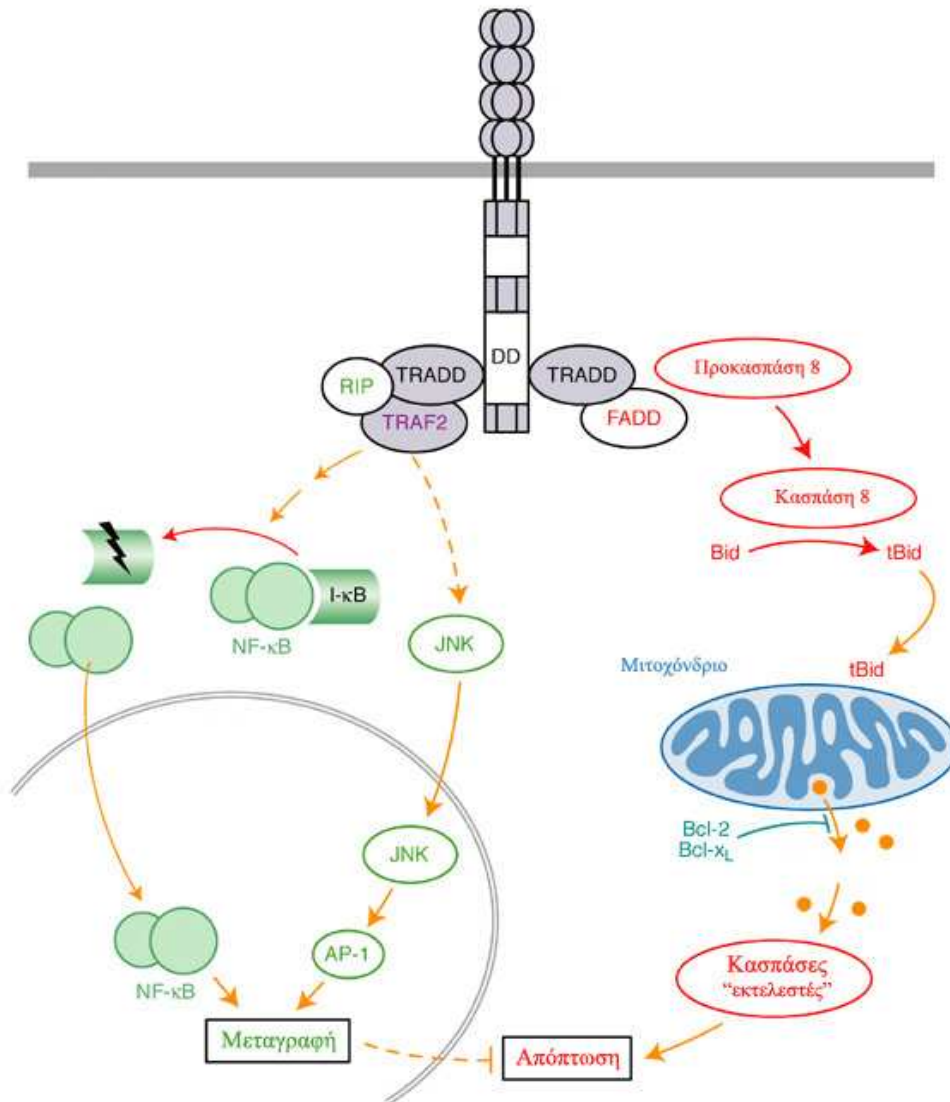
Σχήμα 6. Σχηματική παράσταση της αλληλεπίδρασης του Bcl-2 και του Bax.



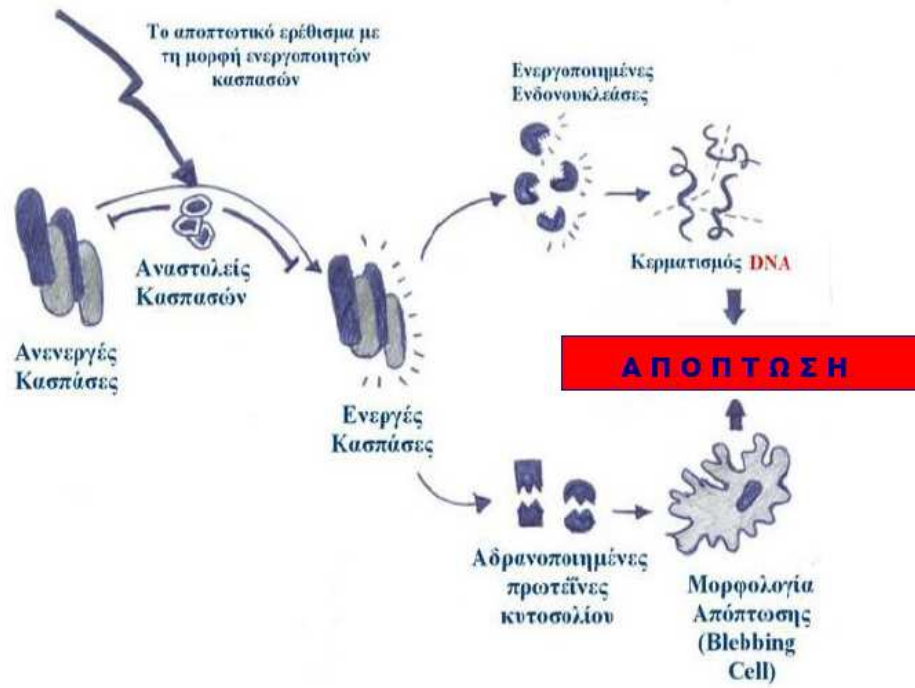
Σχήμα 7. Ενεργοποίηση της εξωγενούς οδού της απόπτωσης και ο ρόλος των Fas, FADD, DISC (Robbins 2003).



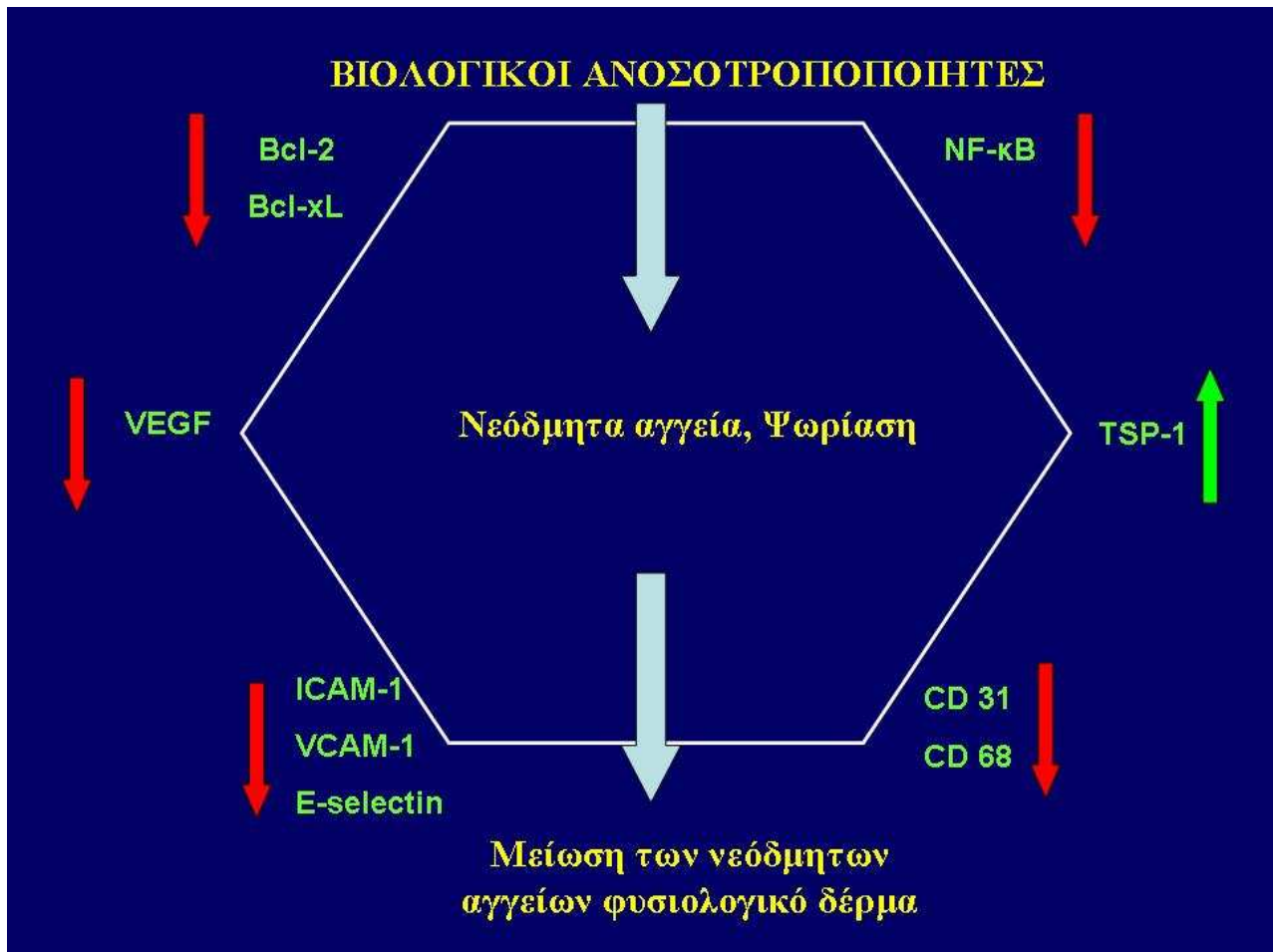
Σχήμα 8. Ακολουθία γεγονότων μετά την σύζευξη του υποδοχέα TNFR1.



Σχήμα 9. Ενεργοποίηση κασπασών.

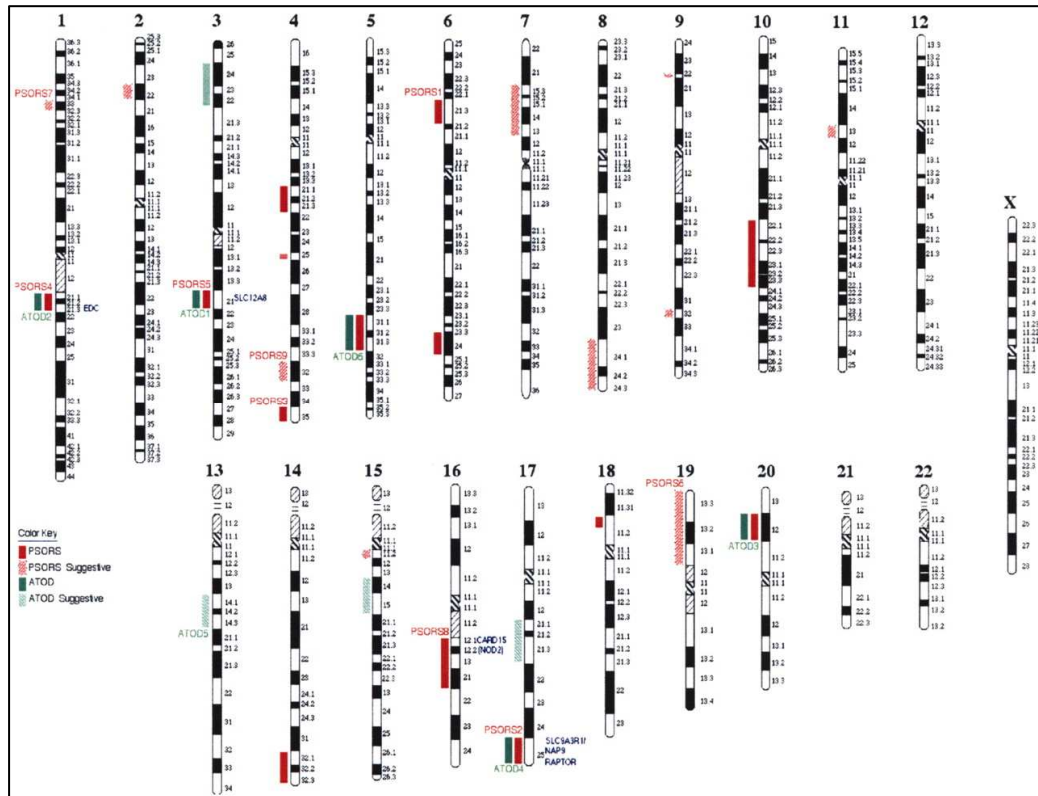


Σχήμα 10. Συνοπτικό σχήμα των πρωτεϊνών που χρησιμοποιήθηκαν και η πορεία τους κατά την διάρκεια της θεραπείας.



9. ΕΙΚΟΝΕΣ

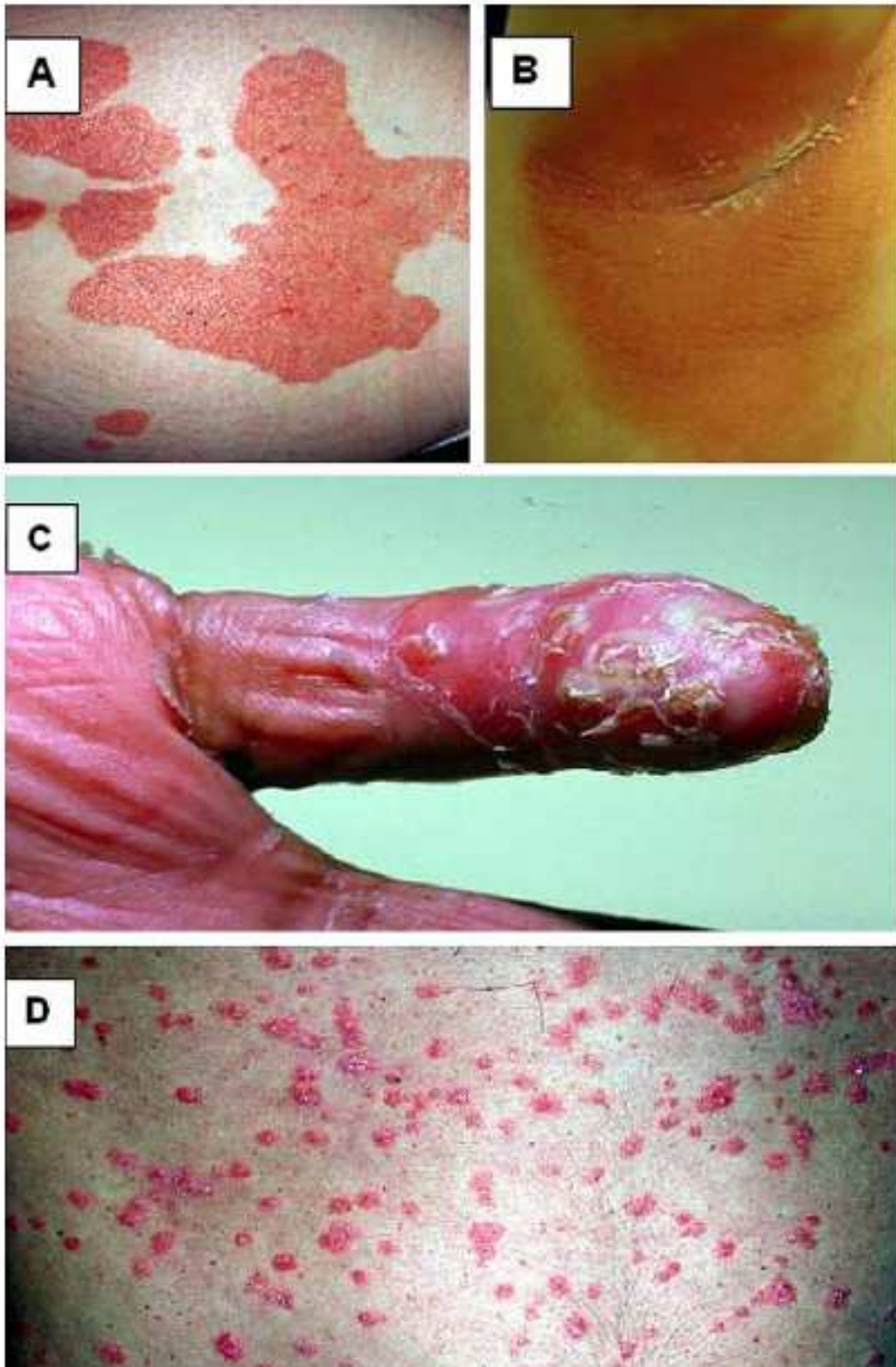
Εικόνα 1. Εντοπισμός των γονιδιακών επιτόπων (PSORS) που συμμετέχουν στην παθογένεση της ψωρίασης. Διακρίνονται επίσης παρακαείμενα γονίδια.



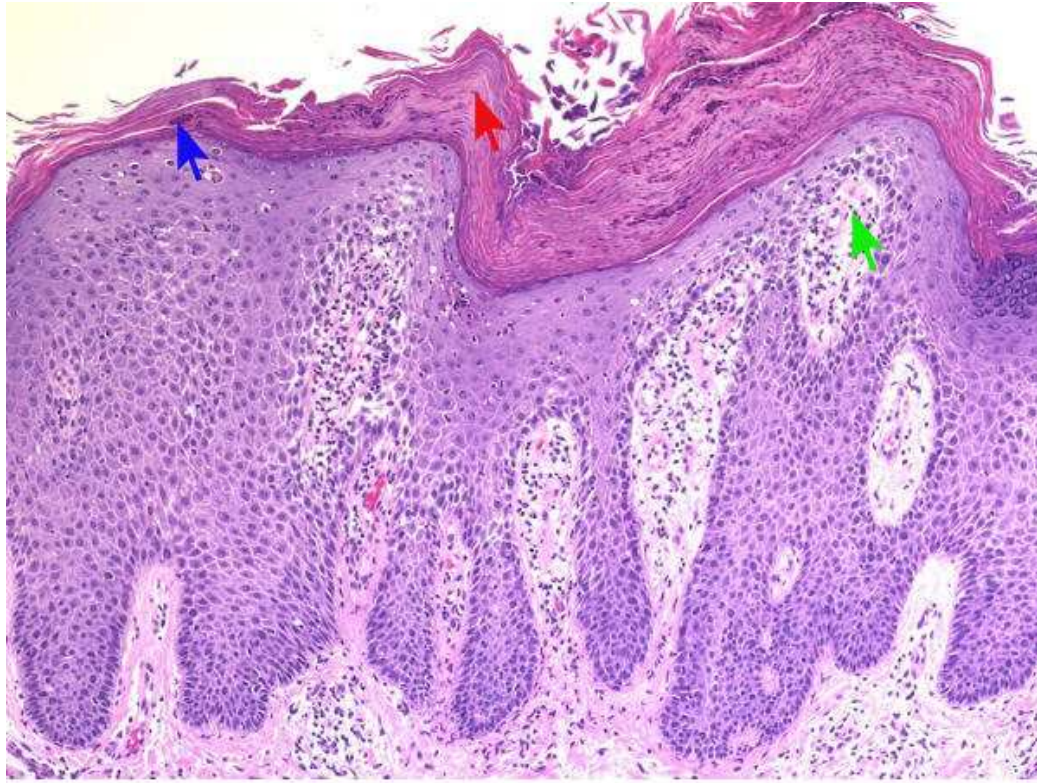
Εικόνα 2. Α, Β, C. Ψωρίαση κατά πλάκες D. Φλεγμονή σε ψωριασική πλάκα E. Ερυθροδερμική ψωρίαση F. Ψωρίαση και ψωριασική αρθρίτιδα.






Εικόνα 3. Α. Ψωριασικές πλάκες, Β. Ανάστροφη ψωρίαση, C. Φλυκταινώδης ψωρίαση D. Σταγονοειδής ψωρίαση.

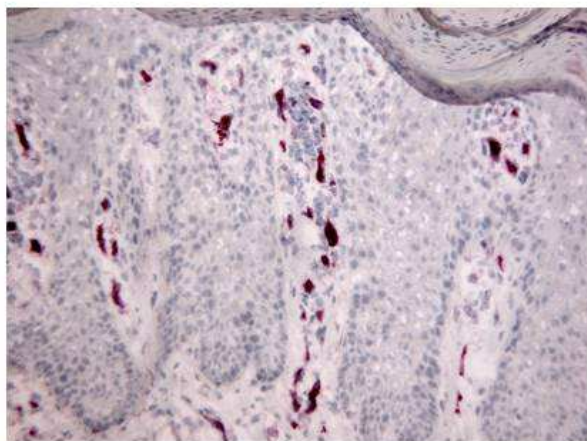


Εικόνα 4. Η ιστοπαθολογία της ψωρίασης.

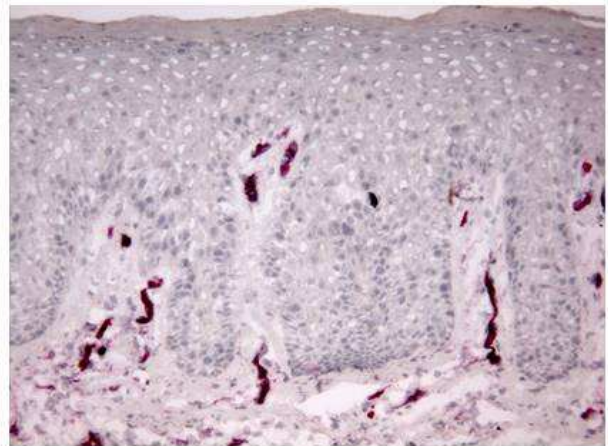


-  **Hyperkeratosis and parakeratosis**
-  **Munro microabscess**
-  **Capillary loop dilation**

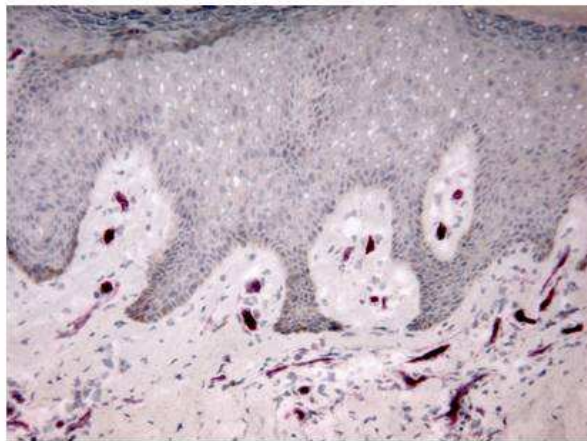
Εικόνα 5. Ψωριασική επιδερμίδα υπό θεραπεία με ετανερσέπτη. Είναι χαρακτηριστική η μείωση στην έκφραση του ενδοθηλιακού δείκτη CD31 στο θηλώδες χόριο κατά την διάρκεια της θεραπείας (Original magnification x400).



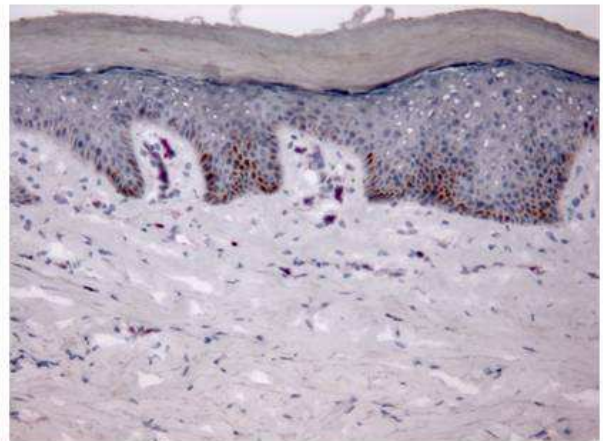
Baseline plaque



3 weeks



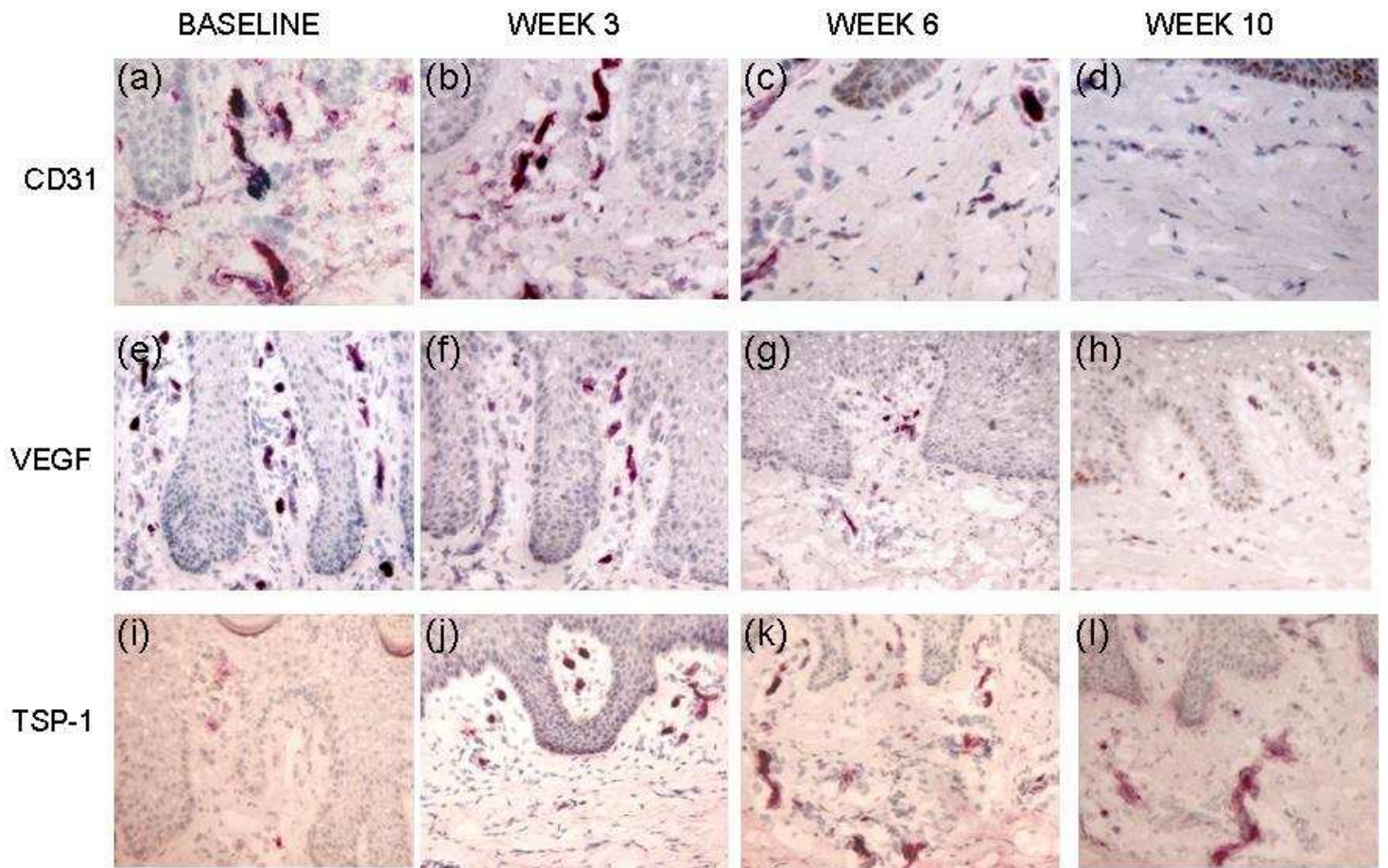
6 weeks



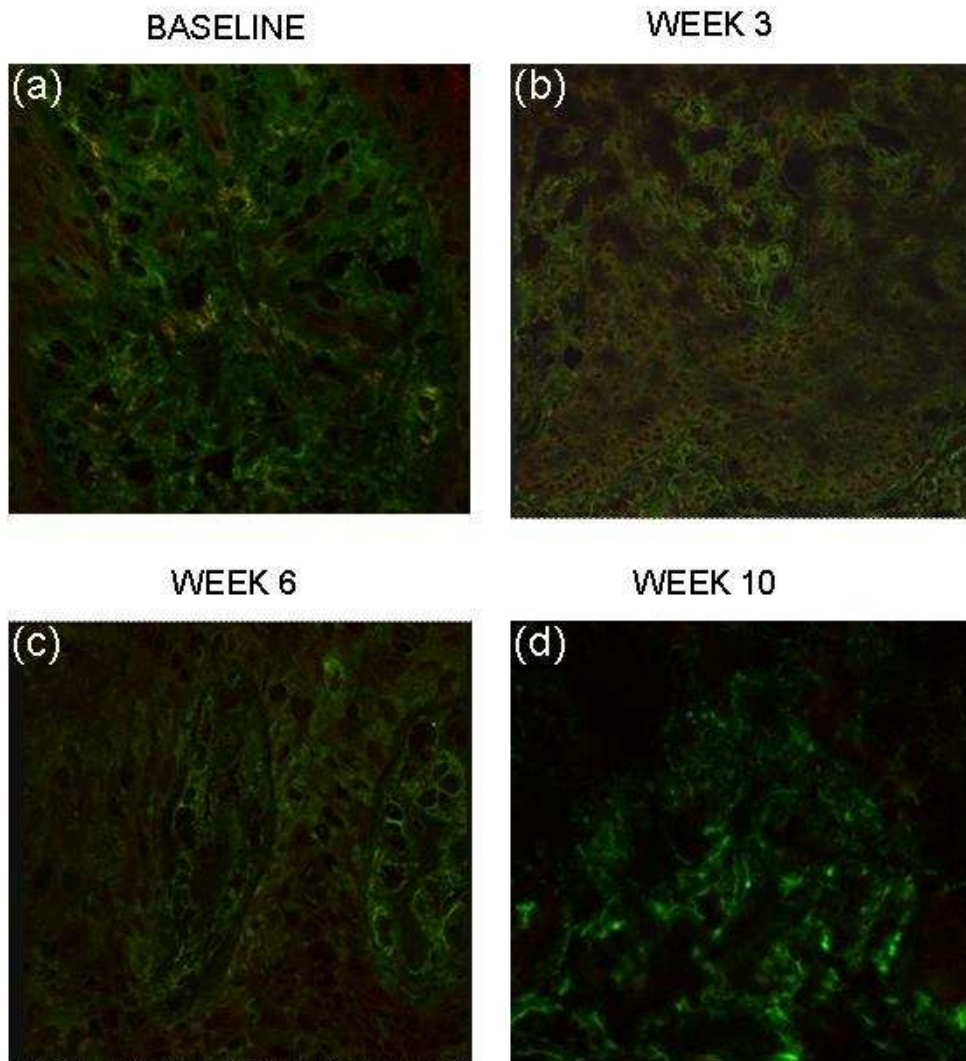
10 weeks

CD31

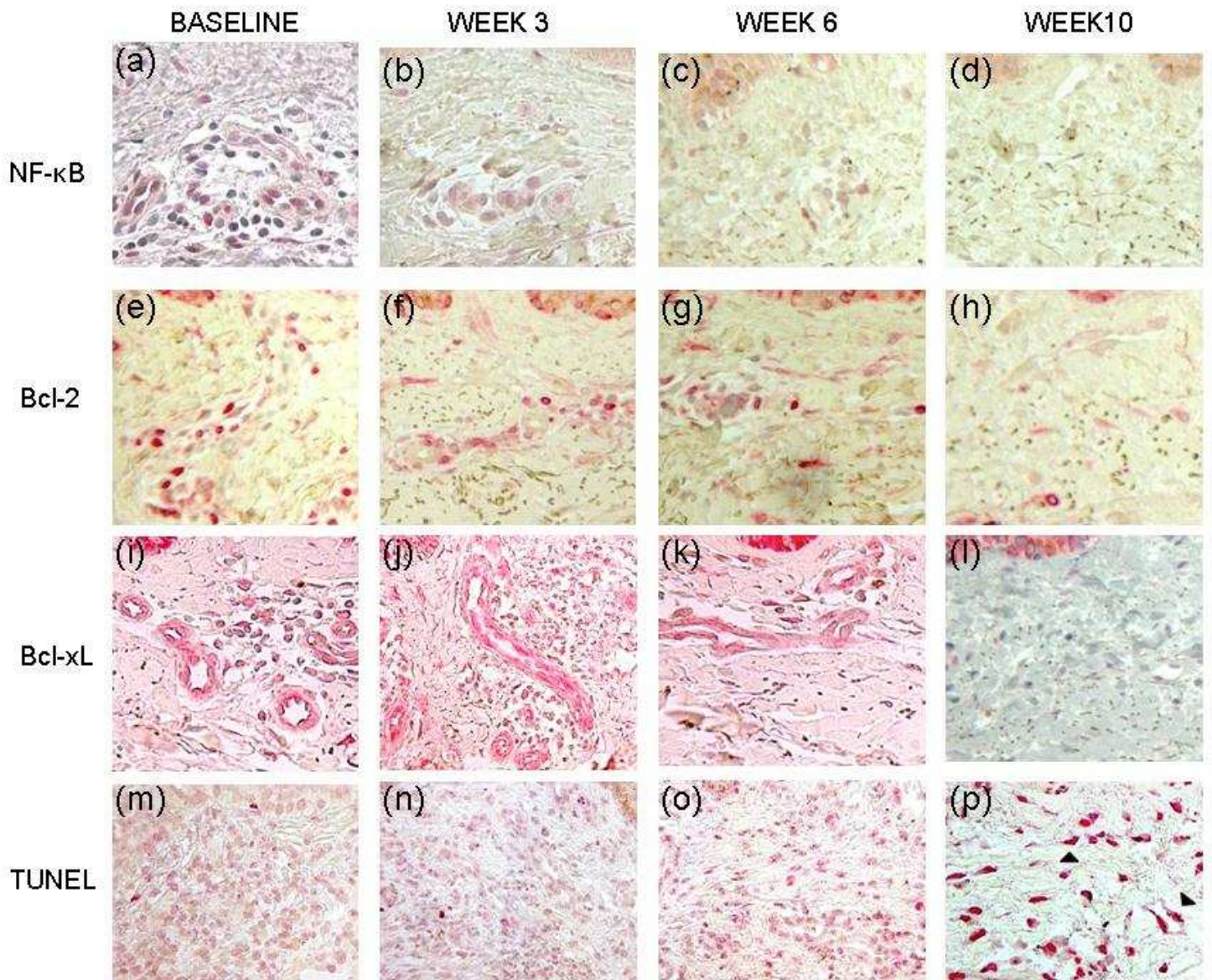
Εικόνα 6. Ψωριασική επιδερμίδα υπό θεραπεία με ετανερσέπτη. Είναι χαρακτηριστική η μείωση στην έκφραση των CD31, VEGF και TSP-1 στο θηλώδες χόριο κατά την διάρκεια της θεραπείας (Original magnification x400).



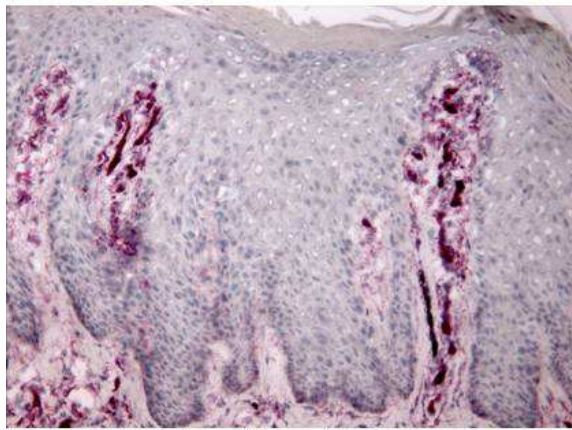
Εικόνα 7. Διπλή χρώση ανοσοφθορισμού για VEGF και CD31 σε ψωριασικές βλάβες και η confocal μικροσκοπία που ακολούθησε έδειξαν μείωση της έκφρασης του VEGF στα ενδοθηλιακά κύτταρα του ανώτερου χορίου κατά την διάρκεια της θεραπείας (Original magnification x400).



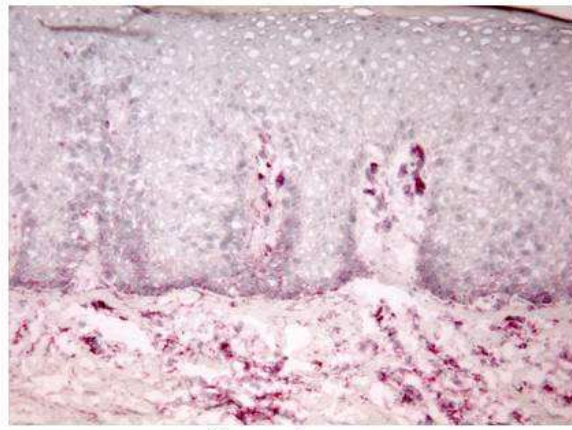
Εικόνα 8. Ψωριασική επιδερμίδα υπό θεραπεία με ετανερσέπτη. Παρατηρείται μείωση στην έκφραση των NF-κB (a, b, c, d), Bcl-2 (e, f, g, h), Bcl-xL (i, j, k, l) στο θηλώδες χόριο κατά την διάρκεια της θεραπείας. Η τεχνική Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labelling (TUNEL) (m, n, o, p) (βελάκια) υποδεικνύει τα αποπτωτικά στοιχεία (Original magnification x400).



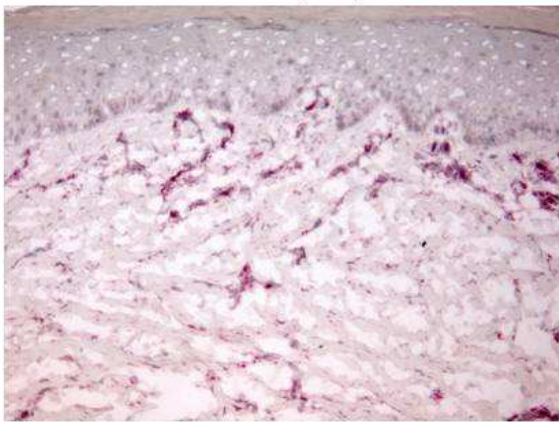
Εικόνα 9. Ψωριασική επιδερμίδα υπό θεραπεία με αδαλιμουμάμπη. Είναι χαρακτηριστική η μείωση στην έκφραση του μορίου προσκολλητικότητας ICAM-1 στο θηλώδες χόριο κατά την διάρκεια της θεραπείας (Original magnification x400).



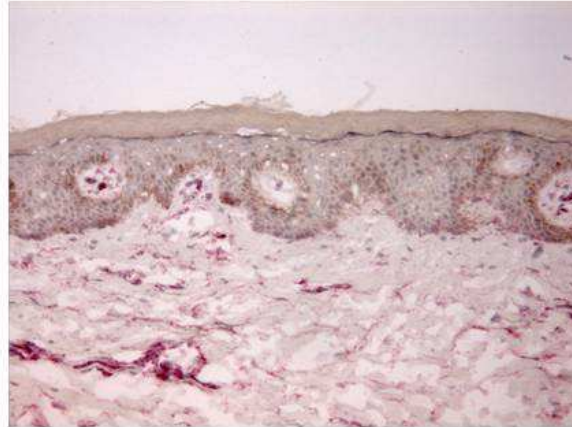
Baseline plaque



3 weeks



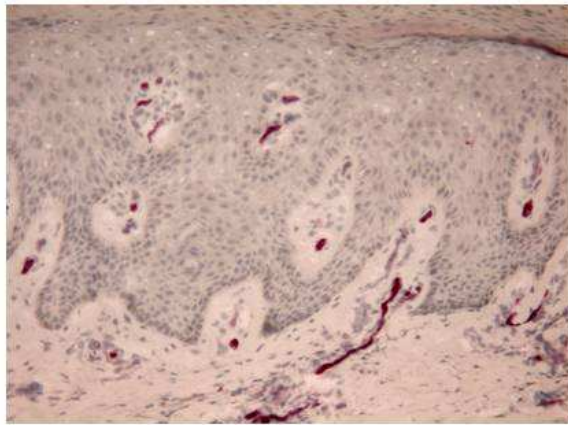
6 weeks



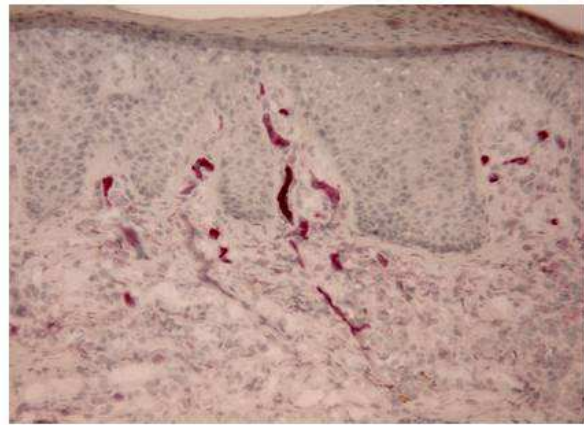
10 weeks

ICAM-1

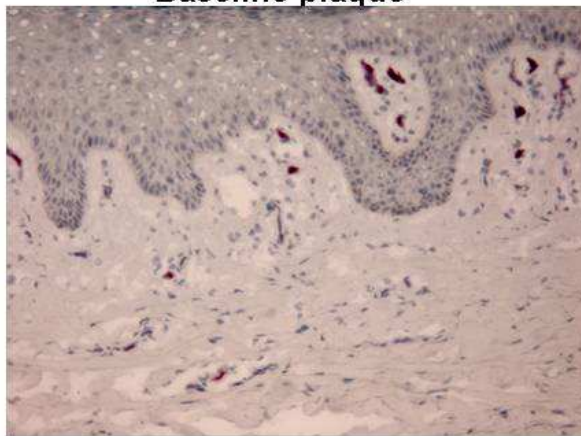
Εικόνα 10 Ψωριασική επιδερμίδα υπό θεραπεία με αδαλιμουμάμπη. Είναι εμφανής η μείωση στην έκφραση του μορίου προσκολλητικότητας VCAM-1 στο θηλώδες χόριο κατά την διάρκεια της θεραπείας (Original magnification x400).



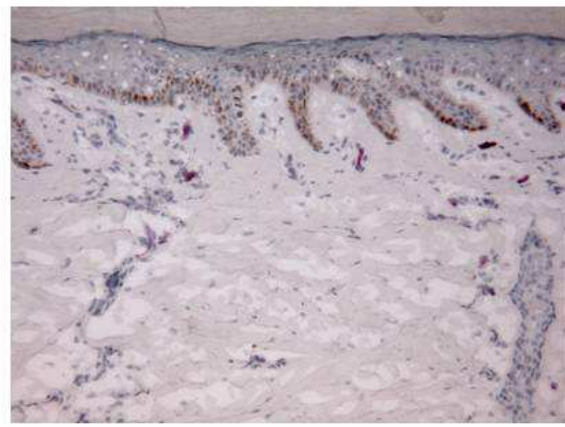
Baseline plaque



3 weeks



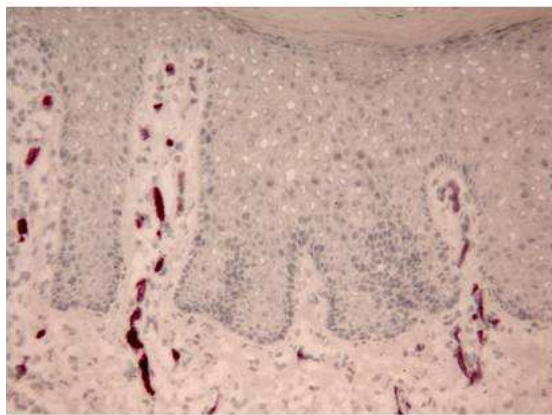
6 weeks



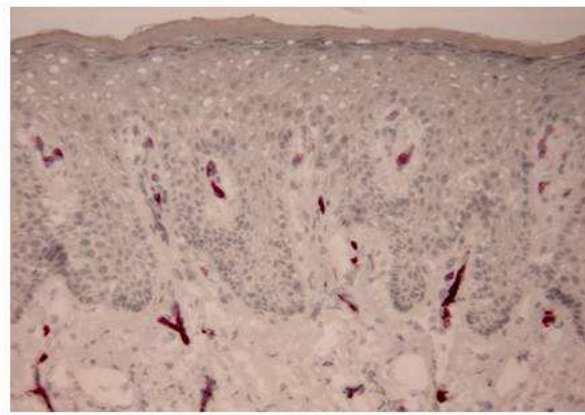
10 weeks

VCAM-1

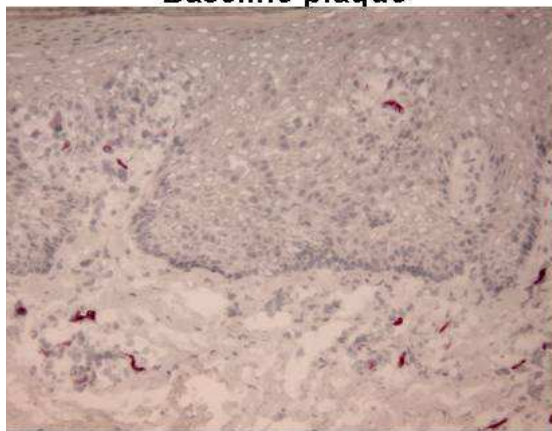
Εικόνα 11. Ψωριασική επιδερμίδα υπό θεραπεία με αδαλιμουμάμπη. Είναι χαρακτηριστική η μείωση στην έκφραση του μορίου προσκολλητικότητας E-selectin στο θηλώδες χόριο κατά την διάρκεια της θεραπείας (Original magnification x400).



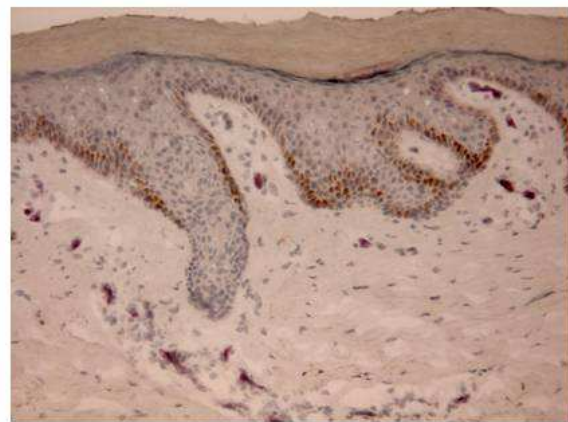
Baseline plaque



3 weeks



6 weeks



10 weeks

E-selectin

Εικόνα 12. Κλινική εικόνα αντιπροσωπευτικού ασθενούς με ψωρίαση κατά πλάκες υπό ετανερσέπτη προ θεραπείας την 3^η, 6^η και 10^η εβδομάδα.



Baseline



3 weeks



6 weeks



10 weeks

Εικόνα 13. Κλινική εικόνα αντιπροσωπευτικού ασθενούς με ψωρίαση κατά συρρέουσες πλάκες υπό αδαλιμουμάμπη προ θεραπείας την 3^η, 6^η και 10^η εβδομάδα.



Baseline



3 weeks



6 weeks



10 weeks

10. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Adams JM, Cory S. The bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science* 1998;281:1322- 6.
- Allombert-Blaise C, Tamiji S, Mortier L, Fauvel H, Tual M, Delaporte E, et al. Terminal differentiation of human epidermal keratinocytes involves mitochondria- and caspase-dependent cell pathway. *Cell Death Differ* 2003;10:850-2.
- Ameen M. Genetic basis of psoriasis vulgaris and its pharmacogenetic potential *Pharmacogenomics* 2003; 4:297-308.
- Ashkenazi A, DIXIT VM. Death receptors: signaling and modulation. *Science* 1998, 281:1305-1308
- Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: signaling and modulation. *Science*. 1998 Aug28;281(5381):1305-8.
- Ballaun C, Weninger W, Uthman A et al. Human keratinocytes express the 3 major splice forms of VEGF. *J Invest Dermatol* 1995; 104: 7–10
- Banno T, Gazel A, Blumenberg M. Pathway-specific profiling identifies the NF-κB dependent tumor necrosis factor a regulated genes in epidermal keratinocytes. *J Biol Chem* 2005; 280:18973-980.
- Barker JN. Pathophysiology of psoriasis. *Lancet* 1991; 338:227-30.
- Barker JNWN. Pathophysiology of psoriasis. *Lancet* 1991; 338: 227–30.
- Bhushan M, Mclaughlin B, Weiss JB et al. Levels of endothelial cell stimulating angiogenesis factor and vascular endothelial growth factor are elevated in psoriasis. *Br J Dermatol* 1999; 141: 1054–60.
- Bianchi L, Farrace MG, Nini G, Piacentini M. Abnormal bcl-2 and tissue transglutaminase expression in psoriatic skin. *J Invest Dermatol* 1994;103:829-33.
- Bos D J. Psoriasis, innate immunity, and gene pools *J Am Acad Dermatol* 2007; 56: 468-471.
- Bowcock M A , Cookson W. The genetics of psoriasis, psoriatic arthritis and atopic dermatitis *Human Molecular Genetics* 2004; 13: 43-55.
- Bowcock M A. Understanding the pathogenesis of psoriasis, psoriatic arthritis and

autoimmunity via a fusion of molecular genetics and immunology *Immunologic Research* 2005; 32: 45-56.

Bowen AR, Hanks AN, Allen SM, Alexander A, Diedrich MJ, Grossman D. Apoptosis regulators and responses in human melanocytic and keratinocytic cells. *J Invest Dermatol* 2003;120:48-55.

Bowen AR, Hanks AN, Murphy KJ, Florell SR, Grossman D. Proliferation, apoptosis, and survivin expression in keratinocytic neoplasms and hyperplasia. *Am J Dermatopathol* 2004;26:177-81.

Boyman O, Conrad C, Tonel G, Gilliet M, Nestle FO. The pathogenic role of tissue-resident immune cells in psoriasis. *Trends Immunol* 2007;28:51-7.

Braverman IM, Sibley BA. Role of the microcirculation in the treatment and pathogenesis of psoriasis. *J Invest Dermatol* 1982; 78:12-17.

Braverman IM, Sibley BA. Role of the microcirculation in the treatment and pathogenesis of psoriasis. *J Invest Dermatol* 1982; 78: 12-7.

Braverman IM, Yen A. Ultrastructure of the capillary loops in the dermal papillae of psoriasis. *J Invest Dermatol* 1977; 68: 53-60.

Braybrooke JP, O'Byrne KJ, Propper DJ et al. A phase II study of razoxane, an anti-angiogenic topoisomerase inhibitor in renal cell cancer with assessment of potential surrogate markers of angiogenesis. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 4697-704.

Brooks PC, Clark RAF, Cheresh DA. Requirement of vascular integrin $\alpha_v\beta_3$ for angiogenesis. *Science* 1994; 264: 569-71.

Bull RH, Bates DO, Mortimer PS. Intravital video-capillaroscopy for the study of the microcirculation in psoriasis. *Br J Dermatol* 1992; 126: 436-45.

Campanati A, Goteri G, Simonetti O et al. Angiogenesis in psoriatic skin and its modifications after administration of etanercept: videocapillaroscopic, histological and immunohistochemical evaluation. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2009; 22:371-77.

Canete JD, Pablos JL, Sanmarti R et al. Antiangiogenic effects of anti-tumor necrosis factor alpha therapy with infliximab in psoriatic arthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50:1636-641.

Capon F, Dallapicola B, Novelli G. Advances in the Search for Psoriasis Susceptibility Genes *Molecular genetics and Metabolism* 2000; 71: 250-255.

Connolly DT, Heuvelman DM, Nelson R et al. Tumor vascular permeability factor

- stimulates endothelial cell growth and angiogenesis. *J Clin Invest* 1989; 84:1470-78.
- Creamer D, Allen M, Sousa A et al. Altered vascular endothelium integrin expression in psoriasis. *Am J Pathol* 1995; 147: 1661–7.
- Creamer D, Allen MH, Groves RW, Barker JNWN. Circulating vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in erythroderma. *Lancet* 1996; 348: 1101 (Letter).
- Creamer D, Allen MH, Jaggar RJ et al. Mediation of systemic vascular hyperpermeability in severe psoriasis by circulating vascular endothelial growth factor. *Arch Derm* 2002; 138: 791–6.
- Creamer D, Allen MH, Sousa A et al. Localisation of endothelial proliferation and microvascular expansion in active plaque psoriasis. *Br J Dermatol* 1997; 136: 859–65.
- Pinkus H, Mehregan AH. The primary histologic lesion of seborrhoeic dermatitis and psoriasis. *J Invest Dermatol* 1966; 46: 109–16.
- Creamer D, Allen MH, Sousa EA et al. Localization of endothelial proliferation of microvascular expansion in active plaque psoriasis. *Br J Dermatol* 1997; 136:859-65.
- Creamer D, Jaggar M, Allen M et al. Overexpression of the angiogenic factor platelet-derived endothelial cell growth factor/ thymidine phosphorylase in psoriatic epidermis. *Br J Dermatol* 1997; 137: 8851–5.
- Creamer D, Sullivan D, Bicknell R et al. Angiogenesis in psoriasis. *Angiogenesis* 2002; 5:231-36.
- Cumberbatch M, Singh M, Dearman RJ, Young HS, Kimber I, Griffiths CEM. Impaired Langerhans cell migration in psoriasis. *J Exp Med* 2006;203:953-60.
- Curtin JF, Cotter TG. Live or let die: regulatory mechanisms in Fas-mediated apoptosis. *Cell Signal* 2003;15:983-92.
- Detmar M, Brown LF, Claffey KP et al. Overexpression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor and its receptors in psoriasis. *J Exp Med* 1994; 180: 1141–6.
- Detmar M, Brown LF, Schon MP et al. Increased microvascular density and enhanced leucocyte rolling and adhesion in the skin of VEGF transgenic mice. *J Invest Dermatol* 1998; 111: 1–6.
- Detmar M, Yeo KT, Nagy JA et al. *J Invest Dermatol* 1995; 105: 44–50.
- Detmar M. The role of VEGF and thrombospondins in skin angiogenesis. *J Dermatol Sci* 2000; 24:S78-S84.

- Elder JT, Fisher GJ, Lindquist PB et al. Overexpression of transforming growth factor- α in psoriatic epidermis. *Science* 1989; 243: 811–4.
- Ettehadi P, Greaves MW, Wallach D et al. Elevated tumour necrosis factor- α (TNF- α) biological activity in psoriatic lesions. *Clin Exp Immunol* 1994; 96: 146–51.
- Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nature Med* 1995; 1:27-31.
- Folkman J. Angiogenesis in psoriasis: Therapeutic implications. *J Invest Dermatol* 1972; 59: 40–3.
- Fukuya Y, Higaki M, Kawashima M. Effect of vitamin D₃ on the increased expression of Bcl-xL in psoriasis. *Arch Dermatol Res* 2002;293:620- 5.
- Garrity M, Burgart L, Riehle D et al. Identifying and quantifying apoptosis: navigating technical pitfalls. *Mod Pathol* 2003; 16:389-94.
- Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Saason SA. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol* 1992;119:493-501.
- Ghoreschi K, Weigert C, Röcken M. Immunopathogenesis and role of T cells in psoriasis. *Clin Dermatol* 2007;25:574-80.
- Gilhar A, Yaniv R, Assy B, Serafimovich S, Ullman Y, Kalish RS. Fas pulls the trigger on psoriasis. *Am J Pathol* 2006;168:170-5.
- Gisondi P, Girolomoni G, Biologic therapies in psoriasis: A new therapeutic approach *Autoimmun Rev* 2007;6: 515-519.
- Gisondi P, Tessari G, Conti A, Piaserico S, Schianchi S, Peserico A, et al. Prevalence of metabolic syndrome in patients with psoriasis: A hospital - based case – control study. *Br J Dermatol* 2007; 157:68-73.
- Goedkoop AY, Kraan MC, Picavet DI et al. Deactivation of endothelium and reduction in angiogenesis in psoriatic skin and synovium by low dose infliximab therapy in combination with stable methotrexate therapy: a prospective single-centre study. *Arthritis Res Ther* 2004; 6:326-34.
- Goodfield M, Macdonald Hull S, Holland D et al. Investigations of the ‘active’ edge of plaque psoriasis: Vascular proliferation precedes changes in epidermal keratin. *Br J Dermatol* 1994; 131: 808–13.
- Gottlieb B A. Therapeutic options in the treatment of psoriasis and atopic dermatitis *J Am Acad Dermatol* 2005; 531: S3-S16.

- Griffiths CE. The immunological basis of psoriasis. *JEADV* 2003; 17(Suppl.2): 1-5.
- Griffiths CEM, Barker J. Pathogenesis and clinical features of psoriasis *Lancet* 2007; 370: 263-271.
- Groves RW, Allen MH, Barker JNWN et al. Endothelial leukocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) expression in cutaneous inflammation. *Br J Dermatol* 1991; 124: 117–23.
- Gudjonsson JE, Elder JT. Psoriasis epidemiology *Clin Dermatology* 2007; 25: 535-546.
- Guilhou J-J, Molès J-P New hypotheses in the genetics of psoriasis and other “complex” diseases *Dermatology* 2008; 216: 87-92.
- Gulan G, Ravlic-Gulan J, Strbo N, Sotosek V, Nemec B, Matovinovic D. Systemic and local expression of perforin in lymphocyte subsets
- Gutierrez-Steil C, Wrone-Smith T, Sun X, Krueger JG, Coven T, Nickoloff BJ. Sunlight-induced basal cell carcinoma tumor cells and ultraviolet-B-irradiated psoriatic plaques express Fas ligand (CD95L). *J Clin Invest* 1998;101:33-9.
- Haraguchi M, Miyadera K, Uemura K et al. Angiogenic activity of enzymes. *Nature* 1989; 338: 557–662 (Letter).
- Heidenreich R, Röcken M, Ghoreschi K. Angiogenesis drives psoriasis pathogenesis. *Int J Exp Pathol* 2009; 90:232-48.
- Henno A, Blacher S, Lambert CA et al. Histological and transcriptional study of angiogenesis and lymphangiogenesis in uninvolved skin, acute pinpoint lesions and established psoriasis plaques: An approach of vascular development chronology in psoriasis. *J Dermatol Sci* 2010; 57:162-69.
- Hern S, Stanton AW, Mellor RH et al. In vivo quantification of the structural abnormalities in psoriatic microvessels before and after pulsed dye laser treatment. *Br J Dermatol* 2005; 152:505-11.
- Hernandez GL, Volpert OV, Iniguez MA et al. Selective inhibition of vascular endothelial growth factor-mediated angiogenesis by cyclosporin A: Roles of the nuclear factor of activated T cells and cyclooxygenase 2. *J ExpMed* 2001; 193: 607-20.
- Hohckberg (ed) *Rheumatology*, 4th edition, 2008. Principles of management, chapter 43 pp 550.
- Hohler T, Marker-Hermann E. Psoriatic arthritis: Clinical aspects, genetics and the

- role of T cells. *Curr Opin Rheumatol* 2001; 13: 273–9.
- Ilan N, Madri JA. PECAM-1: old friend, new partners. *Curr Opin Cell Biol* 2003; 15:515-24.
- in acute and chronic rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2003;30:660-70.
- Jopling RG. Psoriasis – a preliminary questionnaire study of sufferers' subjective experience. *Clin Exp Dermatol* 1976; 1: 233–6.
- Kaštelan M, Prpić-Massari L, Brajac I. Apoptosis mediated by cytolytic molecules might be responsible for maintenance of psoriatic plaques. *Med Hypotheses* 2006;67:336-7.
- Kaštelan M, Prpić-Massari L, Gruber F, Zamolo G, Žauhar G, Čoklo M, et al. Perforin expression is up-regulated in the epidermis of psoriatic
- Kawashima, Doi H, Ito Y, Shibata MA, Yoshinaka R, Otsuki Y. Evaluation of cell death and proliferation in psoriatic epidermis. *J Dermatol Sci* 2004;35:207-14.
- Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis. A basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972;26:239-57.
- Kimball AB, Kupper TS Future perspectives/quo vadis psoriasis treatment? *Immunology, pharmacogenomics and epidemiology Clinics in Dermatology* 2008; 26: 554-61.
- Kooloos M W, de Jong J D, Huizinga W J T, Guchelaar H-J. Potential role of pharmacogenetics in anti-TNF treatment of rheumatoid arthritis and Crohn's disease *Drug Discovery Today* 2007; 12: 125-131.
- Krueger G, Ellis N C, Psoriasis-recent advances in understanding its pathogenesis and treatment *J Am Acad Dermatol* 2005; 53: S94-S100.
- Krueger JG, Bowcock A. Psoriasis pathophysiology: current concepts of pathogenesis. *Ann Rheum Dis* 2005; 64:30-36.
- Krueger JG. The immunologic basis for the treatment of psoriasis with new biologic agents. *J Am Acad Dermatol* 2002, 46(1): 1-23.
- Kruger-Krasagakis S, Galanopoulos V, Giannikaki L et al. Programmed cell death of keratinocytes in infliximab-treated plaque-type psoriasis. *Br J Dermatol* 2006; 154:460-66.
- Krüger-Krasagakis S, Galanopoulos VK, Giannikaki L, Stefanidou M, Tosca AD. Programmed cell death of keratinocytes in infliximab-treated plaque-type psoriasis. *Br J Dermatol* 2006;154:460-6.

- Kuroda K, Sapadin A, Shoji T et al. Altered expression of angiopoietins and Tie2 endothelium receptor in psoriasis. *J Invest Dermatol* 2001; 116: 713–20.
- Laporte M, Galand P, Fokan D, de Graef C, Heene M. Apoptosis in established and healing psoriasis. *Dermatology* 2000;200:314-6.
- Lee SH, Jang JJ, Lee JY, Kim SY, Park WS, Shin MS, et al. Fas ligand is expressed in normal skin and some cutaneous malignancies. *Br J Dermatol* 1998;139:186-91.
- Leonardi CL Efficacy and safety of ustekinumab, a human interleukin-12/23 monoclonal antibody, in patients with psoriasis: 76-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial (PHOENIX 1) *Lancet* 2008; 371: 1665-1674.
- LeServe AW, Hellman K. Metastases and the normalisation of tumour blood vessels by ICRF-159: A new type of drug action. *Br Med J* 1972; 1: 597–601.
- lesions. *Br J Dermatol* 2004;151:831-6.
- Lionel F, Barbara S, Baker J Triggering psoriasis: the role of infections and medications *Clinics in Dermatology* 2007; 25: 606-615.
- Lizzul PF, Aphale A, Malaviya R et al. Differential expression of phosphorylated NF-kappaB/RelA in normal and psoriatic epidermis and downregulation of NF-kappaB in response to treatment with etanercept. *J Invest Dermatol* 2005; 124:1275-283.
- Lowes M, Bowcock A, Krueger J. Pathogenesis and therapy of psoriasis. *Nature* 2007; 445:866-73.
- Lowes MA, Bowcock AM, Krueger JG. Pathogenesis and therapy of psoriasis. *Nature* 2007;445:866-73.
- Malaviya R, Sun Y, Tan J et al. Etanercept induces apoptosis of dermal dendritic cells in psoriatic plaques of responding patients. *J Am Acad Dermatol* 2006; 55:590-97.
- Markham T, Mathews C, Rogers S, et al. Downregulation of the inhibitor of apoptosis protein survivin in keratinocytes and endothelial cells in psoriasis skin following infliximab therapy. *Br J Dermatol* 2006; 155:1191-196.
- McGregor JM, Barker JNWN, MacDonald DM. Pulmonary capillary leak syndrome complicating generalised pustular psoriasis: Possible role of cytokines. *Br J Dermatol* 1991; 125: 472–4.
- McKay IA, Leigh IM. Altered keratinocyte growth and differentiation in psoriasis. *Clin Dermatol* 1995;13:105-14.

Menter A, Griffiths CEM Current and future management of psoriasis Lancet 2007; 370: 272-84.

Miyadera K, Sumizawa T, Haraguchi M et al. Role of thymidine phosphorylase activity in the angiogenic effect of platelet derived endothelial cell growth factor/thymidine phosphorylase. Cancer Res 1995; 55: 1687–90.

Morganroth GS, Chan LS, Weinstein GD et al. Proliferating cells in psoriatic dermis are comprised primarily of T cells, endothelial cells and factor XIIIa+ perivascular dendritic cells. J Invest Dermatol 1991; 96: 333–40.

Negoescu A, Loimier P, Labat-Moleur F et al. In situ apoptotic cell labeling by the TUNEL method: improvement and evaluation of cell preparations. J Histochem Cytochem 1996; 44:959-68.

Nelson AA, Pearce DJ, Fleischer AB et al. New treatments for psoriasis: Which biologic is best? J Dermatol Treat 2006; 17:96-107.

Nickoloff BJ, Mitra RS, Varani J et al. Abberant production of interleukin-8 and thrombospondin-1 by psoriatic keratinocytes mediates angiogenesis. Am J Pathol 1994; 144: 820–8.

Nickoloff BJ, Mitra RS, Varani J et al. Aberrant production of interleukin-8 and thrombospondin-1 by psoriatic keratinocytes mediates angiogenesis. Am J Pathol 1994; 144: 820-28.

Nickoloff BJ. Characterization of lymphocyte-dependent angiogenesis using a SCID mouse: Human skin model of psoriasis. J Invest Dermatol 2000; 5: 67–73.

Nickoloff BJ. The immunologic and genetic basis of psoriasis. Arch Dermatol 1999;135:1104- 10.

Nograles KE, Zaba LC, Guttman-Yassky E. Th17 cytokines interleukin (IL)-17 and IL-22 modulate distinct inflammatory and keratinocytes response pathways. Br J Dermatol 2008;159:1092-102.

Oikawa T, Hirotsu K, Ogasawara H et al. Inhibition of angiogenesis by vitamin D3 analogues. Eur J Pharmacol 1990; 178: 247–50.

Papp KA et al. Efficacy and safety of ustekinumab, a human interleukin-12/23 monoclonal antibody, in patients with psoriasis: 52-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial (PHOENIX 2) Lancet 2008; 371: 1639-40.

Parrizas et al. Inhibition of apoptosis is associated with increased expression of the bcl-xL gene product. Endocrinology 1997, 138:1355-1358

Peter ME, Krammer PH. The CD95 (Apo-1/Fas) DISC and beyond. *Cell Death Differ* 2003;10:26-35.

Prpić L, Štrbo N, Sotošek V, Gruber F, Podack ER, Rukavina D. Assessment of perforin expression in peripheral blood lymphocytes in psoriatic patients during exacerbation of disease. *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)* 2000;211:14-6.

Raj D, Brash DE, Grossman D. Keratinocyte apoptosis in epidermal development and disease. *J Invest Dermatol* 2006;126:243-57.

Rückert R, Asadullah K, Seifert M, Budagian VM, Arnold R, Trombotto C, et al. Inhibition of keratinocyte apoptosis by IL-15: a new parameter in the pathogenesis of psoriasis. *J Immunol* 2000;165:2240-50.

Sabat R, Sterry W, Philipp S, Wolk K. Three decades of psoriasis research: where has it led us? *Clinics in Dermatology* 2007; 25: 504-509.

Saikumar et al. Apoptosis: Definition, mechanisms and relevance to disease. *Am J Med* 1999, 107:489-506

Schultz DR, Harrington WJ. Apoptosis: programmed cell death at a molecular level. *Semin Arthritis Rheum* 2003;32:345-69.

Schwarz PM, Barnett SK, Reuveni H et al. Thymidine salvage changes with differentiation in human keratinocytes in vitro. *J Invest Dermatol* 1991; 97: 1057–60.

Senger DR, Claffey KP, Benes JE et al. Angiogenesis promoted by vascular endothelial growth factor: regulation through $\alpha 1\beta 1$, and $\alpha 2\beta 1$ integrins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94:13612-617.

Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM et al. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science* 1983; 219:983-85.

Senger DR, Ledbetter SR, Claffey KP et al. Stimulation of endothelial cell migration by vascular permeability factor: vascular endothelial growth factor through cooperative mechanisms involving the $\alpha v\beta 3$ integrin, osteopontin and thrombin. *Am J Pathol* 1996; 149:293-305.

Stepp SE, Porunello MA, Bennett M, de Saint Basile G, Kumar V. Perforin: more than just effector molecule. *Immunol Today* 2000;21:254- 6.

Streit M, Velasco P, Brown LF et al. Overexpression of thrombospondin-1 decreases angiogenesis and inhibits the growth of human cutaneous squamous cell carcinomas. *Am J Pathol* 1999; 155:441-52.

Takada Y, Gillenwater A, Ichikawa H et al. Suberoylanilide hydroxamic acid

potentiates apoptosis, inhibits invasion, and abolishes osteoclastogenesis by suppressing nuclear factor- κ B activation. *J Biol Chem* 2006; 281:5612-622.

Takahashi H, Manabe A, Ishida-Yamamoto A, et al. Aberrant expression of apoptosis-related molecules in psoriatic epidermis. *J Dermatol Sci* 2002; 28:187-97.

Takahashi H, Manabe A, Ishida-Yamamoto A, Hashimoto Y, Iizuka H. Aberrant expression of apoptosis-related molecules in psoriatic epidermis. *J Dermatol Sci* 2002;28:187-97.

Tartaglia et al. A novel domain within the 55 kd TNF receptor signals cell death. *Cell* 1993, 74: 845-853

Teraki Y, Shiohara T. Apoptosis and the skin. *Eur J Dermatol* 1999;9:413-26.

Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995;267:1456-62.

Tolsma SS, Volpert OV, Good DJ. Peptides derived from two separate domains of the matrix protein thrombospondin-1 have anti-angiogenic activity. *J Cell Biol* 1993; 122:497-511.

Tomkova H, Fujimoto W, Arata J. Expression of the bcl-2 homologue Bax in normal human skin, psoriasis vulgaris and non-melanoma skin cancers. *Eur J Dermatol* 1998;8:256-60.

Van de Kerkhof PCM. Clinical Features. In *Textbook of Psoriasis*, ed Van de Kerkhof, Blacwell Science 1999, pp 2-29.

Van Gurp M, Festjens N, van Loo G, Saelens X, Vandenabeele P. Mitochondrial intermembrane proteins in cell death. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;304:487-97.

Vander Heiden et al. Bcl-xL regulates the membrane potential and volume homeostasis of mitochondria. *Cell* 1997, 91:627-637

Vega Diaz B, Lenoir M-C, Ladoux A et al. Regulation of vascular endothelial growth factor expression in human keratinocytes by retinoids. *J Biol Chem* 2000; 275: 642-50.

Wolf JE, Harrison RG. Demonstration and characterisation of an epidermal angiogenic factor. *J Invest Dermatol* 1973; 59: 40-3.

Wrone-Smith T, Johnson T, Nelson B, Boise LH, Thompson CB, Nunez G, et al. Discordant expression of Bcl-x and Bcl-2 by keratinocytes in vitro and psoriatic keratinocytes in vivo. *Am J Pathol* 1995;146:1079-88.

Wrone-Smith T, Mitra RS, Thompson CB, Jasty R, Castle VP, Nickoloff BJ. Keratinocytes derived from psoriatic plaques are resistant to apoptosis compared with normal skin. *Am J Pathol* 1997;151:1321-9.

Yagita H, Nakata M, Kawasaki A, Shinkai J, Okumura K. Role of perforin in lymphocytemediated cytotoxicity. *Adv Immunol* 1992;51:215-41.

Yawalkar N, Schmid S, Braathen LR, Pichler WJ. Perforin and granzyme B may contribute to skin inflammation in atopic dermatitis and psoriasis. *Br J Dermatol* 2001;144:1133-9.

Harrison's: Principles of Internal Medicine 14th edition, 2002, pp 654.

Στρατηγός Α. Ψωρίαση. Στο Α. Κατσάμπας, Μαθήματα Δερματολογίας-Αφροδισιολογίας. Πασχαλίδης, Αθήνα, pp 108-134.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΟ ΑΡΘΡΟ

The role of endothelial cell apoptosis in the effect of etanercept in psoriasis

G. Avramidis, S. Krüger-Krasagakis, K. Krasagakis, I. Fragiadaki, G. Kokolakis and A. Tosca Br J Dermatol. 2010 (Epub ahead of print)

ΑΡΘΡΟ ΥΠΟΒΛΗΘΕΝ ΠΡΟΣ ΚΡΙΣΗ

The effect of adalimumab on expression of adhesion molecules in psoriatic endothelium. G. Avramidis, S. Krüger-Krasagakis, K. Krasagakis, G. Evangelou, E. Stathopoulos and A. Tosca Int J Immunopathol Pharmacol 2010 (under review)