

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ REVIEW

Δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και κίρρωση του ήπατος

Η κίρρωση του ήπατος αποτελεί χρόνια ηπατική νόσο που χαρακτηρίζεται από διάχυτη ίνωση και διαταραχή της φυσιολογικής λοβιακής αρχιτεκτονικής του οργάνου. Η παθογένεια της ίνωσης στην ηπατική κίρρωση παραμένει σε μεγάλο βαθμό αδιευκρίνιστη. Ο αγγειοβριθής ινώδης ιστός που περιβάλλει τους αναγεννητικούς ηπατικούς όζους υποδηλώνει τη συμμετοχή της αγγειογένεσης στην παθογένεια, ενώ και η φλεγμονώδης αντίδραση φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο. Υπάρχουν ενδείξεις ότι τα αστεροειδή κύτταρα συνιστούν τα κύτταρα-κλειδιά που ενεργοποιούνται από την υποξία και μια πλειάδα χυμοκινών και κυτταροκινών, στο «σταυροδρόμι» της επικοινωνίας μεταξύ της αγγειογένεσης, της φλεγμονής και της ίνωσης. Κατέχοντας στρατηγική θέση μεταξύ ηπατοκυττάρων και ενδοθηλιακών κυττάρων αποτελούν στόχο, αλλά και πηγή παραγωγής αγγειογενετικών παραγόντων και κυτταροκινών φλεγμονής και ενορχηστρώνουν με θαυμαστό τρόπο τις διεργασίες της ίνωσης, της αγγειογένεσης και της φλεγμονής. Το ενδοθήλιο, ένα όργανο με μεγάλη ετερογένεια στη δομή και στη λειτουργία και μια πλειάδα φυσιολογικών ιδιοτήτων, συσχετίζεται με την παθογένεια της κίρρωσης. Η δυσλειτουργία του εκφράζει την αγγειογένεση, τη φλεγμονή, ενώ πρόσφατα περιγράφεται ο ρόλος που διαδραματίζει στην υπερπηκτικότητα της κίρρωσης, η οποία ομοίως συσχετίστηκε με την εξέλιξη της ίνωσης. Σκοπός της παρούσας ανασκόπησης είναι η παρουσίαση των σύγχρονων απόψεων σχετικά με την παθογένεια της κίρρωσης, καθώς και οι πιθανές θεραπευτικές προοπτικές. Επίσης, περιγράφονται οι ενδοθηλιακές συνενώσεις, περιοχές με πολύπλοκη δομή που ομοίως εκφράζουν ενεργοποίηση του ενδοθηλίου και δεν έχουν έως τώρα μελετηθεί στην κίρρωση.

1. ΗΠΑΤΙΚΗ ΚΙΡΡΩΣΗ – ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Η κίρρωση του ήπατος αποτελεί μη αναστρέψιμη διάχυτη, χρόνια ηπατική νόσο που χαρακτηρίζεται από ίνωση και διαταραχή της φυσιολογικής λοβιακής αρχιτεκτονικής του οργάνου με σχηματισμό ανώμαλων παρεγχυματικών όζων.¹

Η ιστική βλάβη, απότοκος ποικίλων αιτιών –λοιμώξεων, αυτοάνοσων μηχανισμών, ισχαιμίας, τοξινών– οδηγεί στο θάνατο ηπατικών κυττάρων και αποτελεί το έναυσμα της διαδικασίας της επανόρθωσης.^{2,3} Αυτή η διαδικασία περιλαμβάνει τη φάση της αναγέννησης, κατά την οποία τα κύτταρα που έχουν υποστεί βλάβη αντικαθίστανται από κύτταρα ίδιου τύπου, και τη φάση της ίνωσης, κατά την οποία συνδετικός ιστός αντικαθιστά το φυσιολογικό παρέγχυμα.³

Το ήπαρ κατ' εξοχήν χαρακτηρίζεται από μεγάλη αναγεννητική ικανότητα, με τα ώριμα και τα προγονικά ηπατο-

κύτταρα, καθώς και τα επιθηλιακά κύτταρα των χολαγγείων να διατηρούν την ικανότητα πολλαπλασιασμού σε όλη τη διάρκεια της ενήλικης ζωής.^{4,5} Η διαδικασία της ίνωσης που χαρακτηρίζεται από μεταβολές στην κατανομή και στη σύνθεση της εξωκυττάριας ουσίας, κατά την οποία ο φυσιολογικός ιστός αντικαθίσταται από ινώδη, οδηγεί προοδευτικά στη διαταραχή της αρχιτεκτονικής του οργάνου.^{2,3} Τα κύτταρα που κατ' εξοχήν εμπλέκονται στην ίνωση είναι οι μυοϊνοβλάστες, οι οποίοι όταν ενεργοποιηθούν λειτουργούν ως κύτταρα που πρωτίστως παράγουν κολλαγόνο.³ Η κυτταρική προέλευση των μυοϊνοβλαστών ποικίλλει, καθώς στην ινογένεση συμμετέχουν μυοϊνοβλάστες/ινοβλάστες των πυλαίων διαστημάτων και της αφοριστικής ζώνης, περιχολαγγειακοί (μυο)ινοβλάστες, ηπατοκύτταρα που έχουν μετατραπεί σε μυοϊνοβλάστες μέσω επιθηλιακής-μεσεγχυματικής μετατροπής (epithelial-mesenchymal transition) και κυκλοφορούντα ινοκύτταρα προερχόμενα από πολυδύναμα κύτταρα του μυελού των οστών.^{3,6} Επί-

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2014, 31(2):137–149
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2014, 31(2):137–149

Ε. Νομικού,¹
Σ.Π. Ντουράκης²

¹Κέντρο Αιμοδοσίας και Αιμορροφιλίας-
Διαταραχών Αιμόστασης,
Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών
«Ιπποκράτειο», Αθήνα

²Β' Πανεπιστημιακή Παθολογική
Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών
«Ιπποκράτειο», Αθήνα

Endothelial dysfunction
and cirrhosis of the liver

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρετηρίου

Αγγειογένεση
Βιοδείκτες ενδοθηλίου
Κίρρωση
sCD146

Υποβλήθηκε 22.7.2013
Εγκρίθηκε 26.7.2013

σης, στο ήπαρ υπάρχει ένας ιδιαίτερος πληθυσμός –τα αστεροειδή κύτταρα– που κατά την ενεργοποίησή τους διαφοροποιούνται ομοίως σε μυοϊνοβλάστες. Συνιστούν το μόνιμο κυτταρικό πληθυσμό του χώρου του Disse και αποτελούν το 15% του συνόλου των κυττάρων του ήπατος. Όταν ενεργοποιηθούν, αποκτούν ιδιότητες ινοπαραγωγών κυττάρων διαδραματίζοντας βασικό ρόλο στη φλεγμονώδη αντίδραση και στην ηπατική ίνωση.^{7,8} Εκτός από τη δυνατότητα παραγωγής εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και έκλυσης κυτταροκινών και αυξητικών παραγόντων,⁹ αποκτούν την ικανότητα διαφοροποίησης σε ηπατικά ή ενδοθηλιακά κύτταρα,¹⁰ συμμετέχοντας έτσι στην αγγειογένεση μέσω της έκκρισης των αγγειογενετικών παραγόντων του αυξητικού παράγοντα του αγγειακού ενδοθηλίου (vascular endothelial growth factor, VEGF), του δίκην ινσουλίνης αυξητικού παράγοντα (insulin-like growth factor-II, IGF-II) και της ενδοθελίνης.¹¹

Στην κίρρωση, ο ινώδης ιστός αντιπροσωπεύει το 25–40% της συνολικής ηπατικής μάζας, σε αντίθεση με το φυσιολογικό ήπαρ όπου το ποσοστό της ίνωσης ανέρχεται περίπου στο 5%.¹² Κολλαγόνο τύπου I και II εναποτίθεται στα πυλαία διαστήματα, στην περιπυλαία ζώνη και ενδο-λοβιακά, σχηματίζοντας λεπτά ή ευρέα διαφράγματα.²

Οι διαταραχές του αγγειακού δικτύου, με προεξέχουσα τη δυσλειτουργία των ενδοθηλιακών κυττάρων, την αγγειογένεση και τις αρτηριοφλεβώδεις αναστομώσεις, οδηγούν στην αγγειακή αναδιοργάνωση και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία της κίρρωσης.¹³

Συγκεκριμένα, η εναπόθεση κολλαγόνου στο χώρο του Disse οδηγεί αφ' ενός στη δυσλειτουργία των ενδοθηλιακών κυττάρων και αφ' ετέρου στη μετατροπή των κολλοειδών σε αγγειακούς χώρους με χαρακτηριστικά τριχοειδών.¹⁴ Συνέπεια αυτών είναι η διαταραχή της ανταλλαγής ουσιών, αλλά και η αύξηση της κολλοειδικής αντίστασης, καθώς η περικολποειδική ίνωση συμπιέζει τα κολλοειδή, ενώ συγχρόνως αυξάνεται η παραγωγή της αγγειοσυσπαστικής ενδοθελίνης και ελαττώνεται το οξειδίο του αζώτου από το δυσλειτουργικό ενδοθήλιο.¹⁵

Η ιστική υποξία και η φλεγμονώδης διεργασία ενεργοποιούν τη διαδικασία της αγγειογένεσης, η οποία οδηγεί στη δημιουργία νέων αγγείων στο ήπαρ κατά τη διάρκεια της αναγέννησης.¹⁶ Αναπτύσσονται έτσι αρτηριοφλεβώδεις και πυλαιοφλεβικές αναστομώσεις μεταξύ των μικρών αγγειακών κλάδων με κύρια συνέπεια την πλημμυρή αιμάτωση του ηπατικού παρεγχύματος, καθώς το αίμα της ηπατικής αρτηρίας καταλήγει στις ηπατικές φλέβες μέσω των αναστομώσεων. Η εξάλειψη των κολλοειδών και η αυξημένη κολλοειδική αντίσταση, απότοκος της ίνωσης, επιτείνουν την ανάγκη αιματικής παράκαμψης και, καθώς

εξελίσσεται η κίρρωση, το μεγαλύτερο τμήμα του ηπατικού παρεγχύματος παραμένει με πενιχρή αιμάτωση με αποτέλεσμα την επιδείνωση της βλάβης του παρεγχύματος.¹³

Στις διαταραχές του αγγειακού δικτύου περιλαμβάνονται και οι θρομβώσεις πυλαίων και ηπατικών φλεβών, απότοκοι της βραδείας ροής του αίματος στο κίρρωτικό ήπαρ. Αγγειακές θρομβώσεις διαπιστώνονται σε νεκροτομές στο 40% των περιπτώσεων ηπατικής κίρρωσης. Θρομβώσεις στις ηπατικές φλέβες σχετίζονται με περιοχές συρρέουσας ίνωσης και εξάλειψης του ηπατικού παρεγχύματος, ενώ θρομβώσεις στην πυλαία συνδυάζονται με επιδείνωση της πυλαίας υπέρτασης ή την εμφάνιση ηπατικής ανεπάρκειας.²

Οι εστίες της παρεγχυματικής εξάλειψης αποδίδονται σε θρόμβωση μικρών ηπατικών και πυλαίων φλεβών που οδηγούν σε ισχαιμία και απόπτωση των ηπατοκυττάρων. Η εξαφάνιση του παρεγχύματος οδηγεί στη σύγκλιση των τελικών ηπατικών φλεβιδίων και των γειτονικών πυλαίων διαστημάτων, ενώ έπεται η εναπόθεση του ινώδους ιστού. Καθώς η νόσος εξελίσσεται, οι εστίες συρρέουν και η μορφολογία του κίρρωτικού ήπατος διαμορφώνεται από την κατανομή και την έκταση των εστιών της παρεγχυματικής εξάλειψης.

Οι μεταβολές στην αιμάτωση, η ίνωση με τη δημιουργία γεφυροποιών ινωδών διαφραγματιών και η διαταραχή της φυσιολογικής ζωνοειδούς διαμερισματοποίησης έχουν δραματικές συνέπειες για τη λειτουργία του κίρρωτικού ήπατος. Η αιματική ροή προωθούμενη μέσω των νέων αρτηριο-φλεβικών και φλεβο-φλεβικών αναστομώσεων παρακάμπτει μεγάλο τμήμα του ηπατικού παρεγχύματος, αποστερώντας το από τροφοδότηση και διοχετεύοντας τοξικές ουσίες από την πυλαία στη συστηματική κυκλοφορία.² Η διαταραχή της αιμάτωσης σε συνδυασμό με τις μεταβολές στη λειτουργική διαμερισματοποίηση προκαλούν την αποδιοργάνωση της δραστηριότητας του ήπατος και προφανώς συμβάλλουν στις μεταβολικές διαταραχές που παρατηρούνται στην κίρρωση.^{2,17}

2. ΤΟ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟ: ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

Το ενδοθήλιο επί μακρόν θεωρείτο μεμβράνη, ως σελοφάνη, που επαλείφει τα αγγεία με βασική λειτουργία την εξασφάλιση της διαπερατότητας αυτών. Χρειάστηκε να παρέλθουν πολλά χρόνια έρευνας και επίπονων μελετών για να διαλευκανθεί εν μέρει η πολυπλοκότητα τόσο της δομής όσο και της λειτουργίας του. Η λεπτομερής μελέτη του ενδοθηλίου έγινε δυνατή τη δεκαετία του 1970 με την ανάπτυξη τεχνικών *in vitro* καλλιέργειας των ενδοθηλιακών κυττάρων.

Σήμερα, το ενδοθήλιο θεωρείται πλέον όργανο με δυναμική και ετερογένεια που κατέχει συνθετική, εκκριτική, μεταβολική και ανοσολογική λειτουργία.¹⁸ Αποτελείται από $1-6 \times 10^{13}$ ενδοθηλιακά κύτταρα που επαλείφουν τα αγγεία σε κάθε ιστό και όργανο, υπολογίζεται ότι ζυγίζει περίπου 1 kg και καλύπτει στον ενήλικα επιφάνεια έως και 7 m².¹⁹

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα παρουσιάζουν μεγάλη ετερογένεια ως προς τη μορφολογία, το μέγεθος, το σχήμα ή τον τρόπο σύνδεσης μεταξύ τους, που βεβαίως αποδίδει την ετερογένεια στο φαινότυπο, δηλαδή τη διαφορετική λειτουργία του ενδοθηλίου ανάλογα με τον τύπο του αγγείου, του ιστού ή της λειτουργίας του υποκείμενου οργάνου.²⁰ Συγκεκριμένα, ενώ το ενδοθήλιο των αρτηριών και των φλεβών σχηματίζει ένα συνεχές στρώμα κυττάρων συνδεδεμένων μεταξύ τους με σφικτές συζεύξεις, το ενδοθήλιο των τριχοειδών μπορεί να είναι είτε συνεχές είτε ασυνεχές ή θυριδωτό ανάλογα με τις ανάγκες του υποκείμενου ιστού. Το θυριδωτό ενδοθήλιο χαρακτηρίζει όργανα που εμπλέκονται σε λειτουργία έκκρισης ή διήθησης όπως αδένες, βλεννογόνο στομάχου και εντέρου και νεφρικά σπειράματα.²¹ Το ασυνεχές ενδοθήλιο χαρακτηρίζεται από το μεγαλύτερο σε διάμετρο χάσμα μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων επιτρέποντας τη μετανάστευση κυττάρων μεταξύ των κυτταρικών χασμάτων, και ανευρίσκεται σε κολποειδείς αγγειακούς σχηματισμούς όπως στο ήπαρ.²²

Εκτός από την ετερογένεια στη δομή, τα ενδοθηλιακά κύτταρα εμφανίζουν σημαντική ετερογένεια και στη λειτουργία. Η διαπερατότητα του ενδοθηλίου, για παράδειγμα, είναι πολύ μικρή σε συγκεκριμένους ιστούς, όπως χαρακτηριστικά συμβαίνει στον εγκέφαλο –αιματοεγκεφαλικός φραγμός– όπου το ενδοθήλιο είναι συνεχές με σφικτές συζεύξεις.²³ Παρατηρείται δηλαδή «προσαρμογή» του φαινοτύπου του ενδοθηλίου ανάλογα με το όργανο και συνοδεύεται από διαφορετική έκφραση πρωτεϊνών-δεικτών επιφανείας, μορίων προσκόλλησης ή ενδοκυττάρων ενζύμων.²⁰

Το ενδοθήλιο διαδραματίζει πολύ σημαντικό ρόλο σε πλειάδα φυσιολογικών διαδικασιών. Βασικές του λειτουργίες θεωρούνται η φρούρηση (φραγμός-διαπερατότητα), η συμμετοχή στον έλεγχο του αγγειοκινητικού τόνου, η διατήρηση της αιματικής ρευστότητας, η συμβολή στην αιμόσταση, η αγγειογένεση και η συμμετοχή στην ανοσία και στη φλεγμονώδη απάντηση.

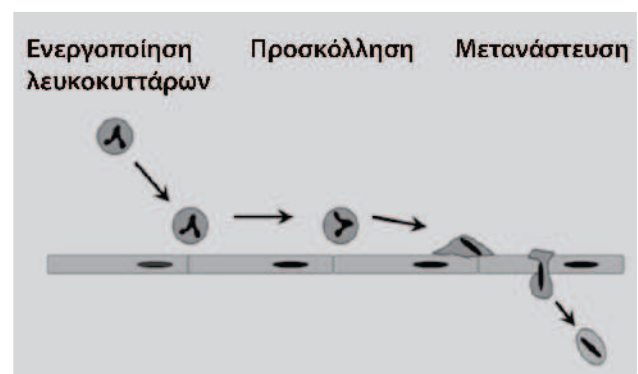
Η «φρούρηση» επιτελείται μέσω του φραγμού, του ελέγχου δηλαδή της μεταφοράς και της επιλεκτικής διάδο μορίων με τη συμβολή πολλαπλών διαμεμβρανικών υποδοχέων για πολυάριθμα μόρια.¹⁸ Το ενδοθήλιο μέσω μορίων προσκόλλησης συμβάλλει ενεργά στη διακίνηση και στη μετανάστευση των λευκοκυττάρων, ιδιαίτερα στις περιοχές της φλεγμονής ως απάντηση στην έκλυση

κυτταροκινών (ιντερλευκίνη-6, interleukin-6 [IL-6], ιντερλευκίνη-8, interleukin-8 [IL-8])²⁴ (εικ. 1). Η διαπίδυση των λευκοκυττάρων λαμβάνει χώρα κυρίως στα μετατριχοειδικά φλεβίδια. Στο ήπαρ συγκεκριμένα, το μεγαλύτερο τμήμα της προσκόλλησης και της διαπίδυσης των λευκοκυττάρων πραγματοποιείται στο ενδοθήλιο των κολποειδών.²⁵ Τα ενδοθηλιακά κύτταρα επί πλέον διαδραματίζουν, μέσω πολύπλοκων μηχανισμών, σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της κυτταρικής ανοσίας είτε ως κύτταρα που παρουσιάζουν αντιγόνα στα Τ-λεμφοκύτταρα, είτε στρατολογώντας κύτταρα φλεγμονής.^{18,26}

Η ρύθμιση του αγγειακού τόνου επιτελείται μέσω της έκλυσης μεσολαβητών ουσιών, είτε με αγγειοδιασταλτική δράση όπως η προστακυκλίνη (prostacyclin) και το μονοξειδίο του αζώτου (nitric oxide, NO), είτε μέσω ουσιών που προάγουν την αγγειοσύσπαση όπως η ενδοθελίνη και ο παράγοντας ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (platelet-activating factor), συμβάλλοντας στη ρύθμιση της πίεσης και της αιματικής ροής.¹⁸

Εξαιρετικά σημαντική είναι η συμβολή του ενδοθηλίου στη διασφάλιση της αιματικής ροής μέσω μιας ιδιαίτερα πολύπλοκης διαδικασίας, που σε φυσιολογικές συνθήκες προσφέρει μια πραγματικά θαυμαστή ισορροπία. Πραγματώνεται με το ρόλο που διαδραματίζουν τα ενδοθηλιακά κύτταρα στην αιμόσταση με την παραγωγή αντιπηκτικών αλλά και προπηκτικών παραγόντων. Έτσι, εξασφαλίζεται αφ' ενός η ρευστότητα του αίματος και αφ' ετέρου η περιορισμένη μόνο δημιουργία θρόμβου εκεί όπου προκύπτει διαταραχή της ακεραιότητας του ενδοθηλίου (τραύμα – φλεγμονή), συμβάλλοντας στην επίσχεση της αιμορραγίας και στην ιστική αποκατάσταση.¹⁸

Η αγγειογένεση είναι η συνεχιζόμενη επέκταση του αγγειακού δένδρου κατά τη διάρκεια της ζωής και η δημιουργία νέων αγγείων που στοχεύει σε φυσιολογικές καταστάσεις στην ιστική αποκατάσταση κατά τη διεργασία



Εικόνα 1. Μετανάστευση των λευκοκυττάρων στις περιοχές της φλεγμονής μέσω του ενδοθηλίου (από Cines et al τροποποιημένο).¹⁸

της επούλωσης τραύματος. Πραγματοποιείται μέσω της δράσης, κυρίως του VEGF και άλλων αγγειοποιητινών, σε υποδοχείς κινάσης τυροσίνης που βρίσκονται σε προϋπάρχοντα ενδοθηλιακά κύτταρα. Με αυτόν τον τρόπο παρατηρείται ενεργοποίηση, πολλαπλασιασμός και μετακίνηση νέων ενδοθηλιακών κυττάρων σε νέους σωληνώδεις σχηματισμούς, δηλαδή σε νέα αγγεία.^{27,28}

Συνοψίζοντας, το φυσιολογικό ανέπαφο ενδοθήλιο αναστέλλει την ενεργοποίηση της πήξης, διατηρεί τον αγγειακό τόνο σε διαστολή μέσω του NO και αναστέλλει την προσκόλληση λευκοκυττάρων και αιμοπεταλίων παρέχοντας μια «αντιθρομβωτική και αντιφλεγμονώδη» επιφάνεια, διασφαλίζοντας έτσι την ακεραιότητα του αγγείου, τη ροή και την αιματική ρευστότητα. Αντίθετα, όταν τα ενδοθηλιακά κύτταρα ενεργοποιηθούν στην προσπάθεια αναχαίτισης αιμορραγίας ή τραύματος, δημιουργείται μέσω των αντίθετων ενεργειών –αγγειοσυσπασσης, ενεργοποίησης μηχανισμού πήξης, προσκόλλησης έμμορφων στοιχείων– μια «προθρομβωτική και προφλεγμονώδης» επιφάνεια. Η ενεργοποίηση του ενδοθηλίου συνιστά σημαντική λειτουργία του, απαραίτητη για την αποκατάσταση της ιστικής βλάβης και την άνοση απάντηση.

Ωστόσο, η μη ελεγχόμενη ενεργοποίηση θα οδηγήσει σε «δυσλειτουργία» σχετιζόμενη με παθολογικές καταστάσεις, όπως χαρακτηριστικά παρατηρείται σε καρδιαγγειακά νοσήματα (αθηρωμάτωση, υπέρταση), στα φλεγμονώδη νοσήματα, στη σήψη, στις αγγειίτιδες και στα κακοήθη νοσήματα.

Δείκτης της βλάβης του ενδοθηλίου θεωρείται η ανεύρεση στην κυκλοφορία ενδοθηλιακών κυττάρων. Αυτά αποσπώνται από το ενδοθήλιο σε περίπτωση μηχανικής βλάβης, όταν διαταράσσεται η λειτουργία των μορίων προσκόλλησης ή άλλων πρωτεϊνών του στρώματος και, τέλος, σε περίπτωση κυτταρικής απόπτωσης.²⁹

Τα κυκλοφορούντα ενδοθηλιακά κύτταρα (circulating endothelial cells, CEC) συνήθως δεν ανευρίσκονται σε υγιή άτομα. Αντίθετα, είναι παρόντα σε νοσήματα όπου προέχει η βλάβη του ενδοθηλίου. Έχει διαπιστωθεί αυξημένος αριθμός CEC σε ασθενείς με αιματολογικές κακοήθειες, μελάνωμα ή καρκίνο του μαστού, των ωοθηκών, των όρχων, του προστάτη και του παχέος εντέρου.^{30,31} Ομοίως, τα CEC είναι αυξημένα σε ασθενείς με δρεπανοκυτταρική αναιμία, σε αγγειίτιδες, στη σήψη, στην αθηρωμάτωση και σε καρδιαγγειακά νοσήματα.

Πολλές μελέτες αξιολογούν το ρόλο του ενδοθηλίου και της αγγειογένεσης στη χρόνια ηπατική νόσο και στην κίρρωση. Δείκτες ενεργοποίησης του ενδοθηλίου που προσδιορίζονται στο αίμα προσφέρουν έναν προσιτό, μη επεμβατικό, έμμεσο τρόπο εκτίμησης της ίνωσης και ενδεχομένως έναν υποσχόμενο στόχο στη θεραπευτική.

Καθώς προς το παρόν δεν υπάρχει βιοδείκτης που να μπορεί με ακρίβεια να ανιχνεύει την ιστολογικά επιβεβαιωμένη κίρρωση,^{32,33} στόχος των σύγχρονων μελετών είναι η αξιολόγηση δεικτών που πρωτίστως θα μπορούν να έχουν κλινική χρησιμότητα. Τα CEC, τα προγονικά ενδοθηλιακά κύτταρα (endothelial progenitor cells, EPC) και οι διαλυτοί αγγειογενετικοί παράγοντες, όπως ο VEGF, έχουν αξιολογηθεί στην κίρρωση και τα αποτελέσματα επιβεβαιώνουν τη συσχέτιση αγγειογένεσης-ίνωσης αλλά και τη συμβολή της στην πρόοδο της κίρρωσης.^{34–40}

Αντίθετα, οι ενδοθηλιακές συνενώσεις, που είναι περιοχές του ενδοθηλίου με πολύπλοκη δομή, ελάχιστα έχουν μελετηθεί και δεν υπάρχουν έως σήμερα αναφορές σχετικά με το ρόλο τους σε κίρρωτικούς ασθενείς.

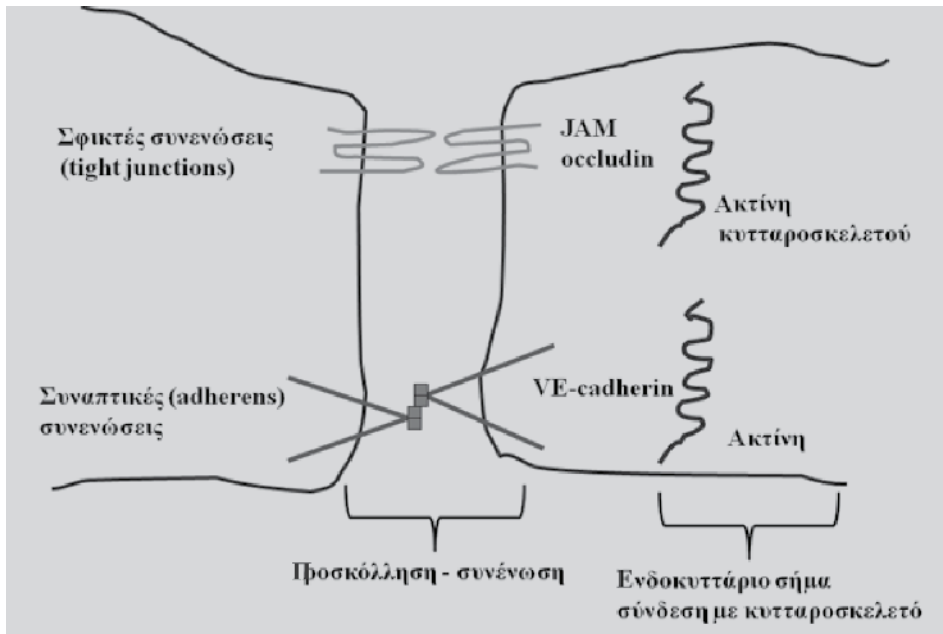
2.1. Οι ενδοθηλιακές συνενώσεις

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα διατηρούν την επαφή τους με τα παρακείμενα μέσω σύνθετων και πολύπλοκων δομών, που αποτελούν τις περιοχές συνένωσης (endothelial junctions). Οι διακυτταρικές συνενώσεις, ουσιαστικά, είναι ειδικές περιοχές της μεμβράνης που οργανώνονται κατά την επαφή δύο κυττάρων. Οι ενδοθηλιακές συνενώσεις αποτελούνται από διαμεμβρανικές πρωτεΐνες που αφ' ενός διατηρούν τη σύναψη των παρακείμενων κυττάρων και αφ' ετέρου ασκούν δράση σε αντίστοιχους ενδοκυττάρους υποδοχείς στον κυτταροσκελετό και συμβάλλουν στην «αγκυροβόληση» και στη σταθεροποίηση της συνένωσης.^{41,42}

Στο ενδοθήλιο περιγράφονται κυρίως δύο τύποι συνενώσεων: Οι συναπτικές (adherens junctions) και οι σφικτές – στενού τύπου συνενώσεις (tight junctions) (εικ. 2).

Η δομή τους διαφέρει με σκοπό να υπηρετούν τις λειτουργικές απαιτήσεις των διαφόρων οργάνων.⁴³ Στη μικροκυκλοφορία του εγκεφάλου και στο ενδοθήλιο που επενδύει αρτηριακούς κλάδους, όπου απαιτείται αυστηρή επιτήρηση της διαπερατότητάς του, επικρατούν οι στενού τύπου συνδέσεις.^{41,43} Αντίθετα, στα μετατριχοειδικά φλεβίδια οι συνενώσεις είναι εξειδικευμένες στην αναστρέψιμη διαφυγή πλάσματος ή στη διαπίδυση έμμορφων στοιχείων.⁴³

Οι ενδοθηλιακές συνενώσεις παρουσιάζουν πολύπλοκη μοριακή οργάνωση με διαμεμβρανικά και κυτταροπλασματικά στοιχεία. Πρωτεΐνες προσκόλλησης με διμερή διάταξη συνδέονται με παρόμοια διμερή του παρακείμενου ενδοθηλιακού κυττάρου, δημιουργώντας συμπλέγματα μορίων προσκόλλησης. Επί πλέον, ένα σύνθετο δίκτυο ενδοκυττάριας μεταφοράς σήματος μέσω αντίστοιχων μεσολαβητών-συνεργών υποδοχέων καθιστά τις περιοχές των συνενώσεων βασικούς πρωταγωνιστές μεταφοράς πληροφοριών εντός των κυττάρων.^{41,43}



Εικόνα 2. Ενδοθηλιακές συνενώσεις (από Dejana et al τροποποιημένο).⁴¹ Occludin: Οκλουδίνη, JAM: Junctional adhesion molecule, συνενωτικά μόρια προσκόλλησης, VE-cadherin: Vascular endothelial cadherin, καδερίνη του αγγειακού ενδοθηλίου.

Τα τελευταία χρόνια γίνεται μεγάλη προσπάθεια αποκρυπτογράφησης της οργάνωσης των δια-κυτταρικών συνενώσεων και έχουν αναγνωριστεί αρκετές διαμεμβρανικές πρωτεΐνες. Η καδερίνη του αγγειακού ενδοθηλίου (vascular endothelial cadherin, VE-cadherin) στις συναπτικές συνενώσεις, η οκλουδίνη (occludin) και η οικογένεια των συνενωτικών μορίων προσκόλλησης JAM (junctional adhesion molecule) στις στενού τύπου συνενώσεις συνιστούν μικρό μόνο δείγμα των μορίων αυτών^{44,45} (εικ. 2).

Οι ενδοθηλιακές συνενώσεις ελέγχουν πολύ σημαντικές λειτουργίες του ενδοθηλίου και αποτελούν δομές με δυναμική και όχι στατική ικανότητα, αφού υπηρετούν τις ανάγκες του ενδοθηλίου σε «ηρεμία» και στη φάση της ενεργοποίησής του, όπως συμβαίνει κατά τη διαδικασία της φλεγμονής και της αγγειογένεσης.^{46,47}

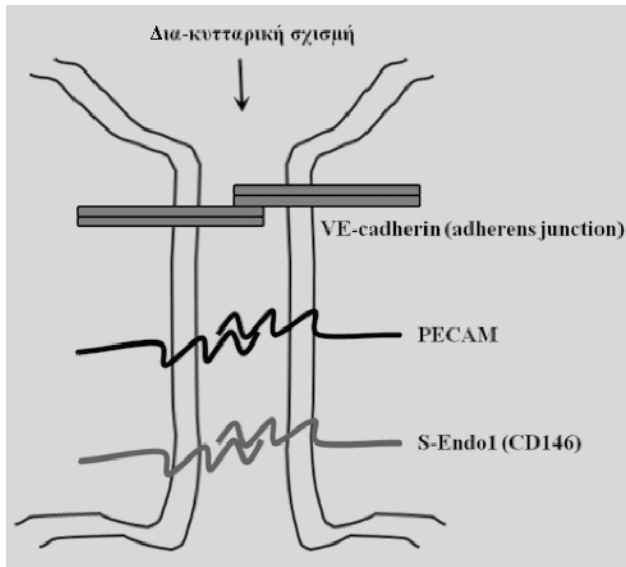
Οι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες των συνενώσεων μέσω των ενδοκυττάρων σημάτων αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και την απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων, ενώ συμβάλλουν στη διατήρηση της πολικότητας και της επιλεκτικής διαπερατότητας.^{43,47} Ωστόσο, διαθέτουν τη δυναμική να μεταπηδήσουν στην αντίθετη λειτουργία όταν απαιτείται αγγειογένεση, οπότε συμβαίνει πολλαπλασιασμός και μετανάστευση ενδοθηλίου και δόμηση νεο-διαμορφωμένου αγγειακού δικτύου.⁴⁸ Το ίδιο συμβαίνει και κατά τη φλεγμονώδη απάντηση, οπότε χαλαρώνει η λειτουργία του φραγμού και αυξάνει η διαπίδυση λευκοκυττάρων.^{47,49}

Οι συναπτικές συνενώσεις (adherens junctions), εκτός από τη συμβολή τους στη διατήρηση της ακεραιότητας του ενδοθηλίου, σχετίζονται κατ' εξοχήν με την αγγειογένεση

και την οργάνωση των νέων αγγείων.⁴² Αυτό μάλλον συμβαίνει μέσω της δημιουργίας συμπλεγμάτων με υποδοχείς αυξητικών παραγόντων, όπως του υποδοχέα του αυξητικού παράγοντα του αγγειακού ενδοθηλίου-2 (vascular endothelial growth factor receptor-2, VEGFR-2) και της ρύθμισης της λειτουργίας τους.⁴⁷ Αντίθετα, οι συνενώσεις στενού τύπου (tight junctions) δεν εμπλέκονται στην αγγειογένεση, αλλά σχετίζονται κατ' εξοχήν με τη λειτουργία του φραγμού ελέγχοντας κυρίως την παρα-κυτταρική διαβατότητα και τη διατήρηση της πολικότητας των ενδοθηλιακών κυττάρων.⁴²

Η προσπάθεια της αποκρυπτογράφησης της οργάνωσης των ενδοθηλιακών συνάψεων, εκτός από την προσφορά στην κατανόηση της επικοινωνίας του ενδοθηλίου με τον περιβάλλοντα χώρο, πιθανόν να ανοίξει νέες οδούς στη θεραπευτική με σκοπό τον έλεγχο της φλεγμονής και της αγγειογένεσης μέσω της στόχευσης στην ενδοθηλιακή συνένωση.^{46,47}

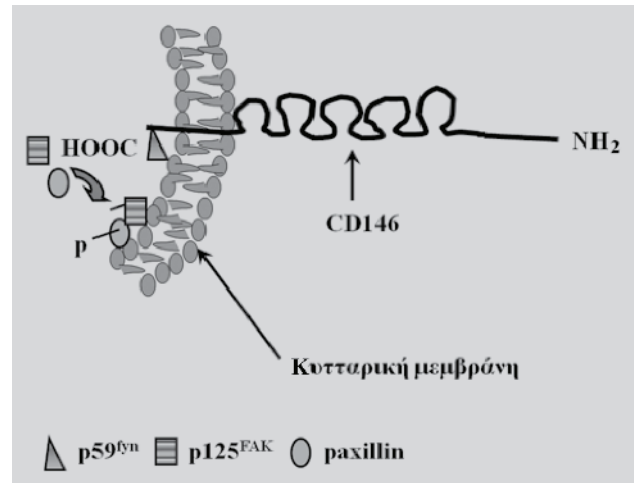
2.1.1. Ο βιοδείκτης ενεργοποίησης ενδοθηλίου CD146. Πρόσφατα, ανακαλύφθηκαν δύο νέες διαμεμβρανικές πρωτεΐνες που εκτείνονται κατά μήκος των δια-κυτταρικών σχισμών των παρακείμενων ενδοθηλιακών κυττάρων: Το μόριο προσκόλλησης αιμοπεταλίων-ενδοθηλιακών κυττάρων (platelet endothelial cell adhesion molecule, PECAM-1)^{50,51} και το αντιγόνο CD146 (S-endo-1 Ag), αναφερόμενο και ως MUC18^{52,53} (εικ. 3). Η πρωτεΐνη PECAM έχει μελετηθεί επαρκώς και σήμερα θεωρείται ότι βρίσκεται μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων, χωρίς όμως να περιορίζεται στις περιοχές των συνενώσεων.^{42,46} Αντίθετα, η πρωτεΐνη CD146 έχει μελετηθεί πολύ λιγότερο.



Εικόνα 3. Ενδοθηλιακή συνένωση: Εντόπιση διαμεμβρανικών πρωτεϊνών PECAM, CD146 (από Bazzoni και Dejana τροποποιημένο).⁴² PECAM: Platelet endothelial cell adhesion molecule, μόριο προσκόλλησης αιμοπεταλίου-ενδοθηλιακών κυττάρων.

Το αντιγόνο S-endo-1 (CD146), γνωστό και ως MUC18/MCAM ή Mel-CAM ή A32 αντιγόνο, ανήκει στα μόρια προσκόλλησης και είναι μέλος της υπερ-οικογένειας των ανοσοσφαιρινών (Ig SF),⁵² η οποία περιλαμβάνει ποικιλία κυτταρικών υποδοχέων που χαρακτηρίζονται από κοινή δομή – την Ig ομολογία στην εξωκυττάρια περιοχή.⁵⁴ Τα συνώνυμα του CD146 οφείλονται στην αναγνώριση της έκφρασής του σε διαφορετικούς ιστούς από ανεξάρτητες ερευνητικές ομάδες.⁵⁵ Αρχικά, αυτό το μόριο ανακαλύφθηκε σε κύτταρα μελανώματος⁵⁶ και ακολούθως σε διάφορους ιστούς, όπως σε κύτταρα λείων μυών, σε δενδριτικά κύτταρα,^{53,57} στην τροφοβλάστη και στους μυοϊνοβλάστες.⁵⁸ Σήμερα είναι γνωστό ότι εκφράζεται σε όλο το ανθρώπινο ενδοθήλιο, ανεξάρτητα από την ανατομική θέση ή το διαμέτρημα του αγγείου.^{57,59}

Το μόριο CD146 εντοπίζεται στην ενδοθηλιακή συνένωση, όχι όμως εκεί όπου εδράζεται η VE-καδερίνη της συναπτικής συνένωσης⁵³ (εικ. 3). Αποτελείται από πέντε εξωκυττάριας περιοχές με ομολογία όπως η Ig (V-V-C2-C2-C2), ένα διαμεμβρανικό τμήμα και μια μικρή κυτταροπλασματική τελική περιοχή, η οποία μέσω κινασών μεταδίδει το ενδοκυττάρια σήμα στο πολύπλοκο δίκτυο των πρωτεϊνών του κυτταροσκελετού. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω φωσφορυλίωσης ενδοκυττάριας μορίων και δημιουργίας συμπλέγματος πολλών πρωτεϊνών, όπως των CD146, p59^{FYN}, p125^{FAK} και της παξιλλίνης. Το εν λόγω σύμπλεγμα προάγει την προσκόλληση και τη συνοχή των παρακείμενων ενδοθηλιακών κυττάρων^{53,55,60} (εικ. 4). Επί πλέον, φαίνεται ότι μέσω της



Εικόνα 4. CD146: Δομή-μετάδοση ενδοκυττάριας σήματος (από Shih τροποποιημένο).⁵³ Paxillin: Παξιλλίνη.

διατήρησης της συνοχής συμμετέχει στον έλεγχο της παρακυττάριας διαπερατότητας του ενδοθηλίου.⁵³

Νεότερες μελέτες αποκαλύπτουν τη συμμετοχή του μορίου CD146 στην αγγειογένεση, που αποτελεί ιδιαίτερα πολύπλοκη διαδικασία σχετιζόμενη άμεσα με τη λειτουργία της δια-ενδοθηλιακής συνένωσης.^{61,62} Η δημιουργία αγγείου απαιτεί εκτεταμένες και δυναμικές αλλαγές στη μορφολογία του ενδοθηλίου με την ενεργοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων, τη μεταξύ τους επικοινωνία και τη συμβολή κυρίως του κυτταροσκελετού.⁶³ Φαίνεται ότι η μετάδοση από το μόριο CD146 του ενδοκυττάριας σήματος –μέσω φωσφορυλίωσης πρωτεϊνών– στον κυτταροσκελετό ενεργοποιεί τη διαδικασία της μετακίνησης και του πολλαπλασιασμού των ενδοθηλιακών κυττάρων, την υποστροφή τους για την εμφάνιση αυλού, την αναδιοργάνωσή τους και, τελικά, τη δημιουργία νέου αγγείου.^{55,62,63}

Κατά τη διαδικασία της φλεγμονής, το ενεργοποιημένο από τις κυτταροκίνες (παράγων νέκρωσης του όγκου α, tumor necrosis factor [TNF-α], ιντερλευκίνη-2, interleukin-2 [IL-2]) ενδοθήλιο αυξάνει τη διαπερατότητά του, εκφράζει μόρια προσκόλλησης και, τελικά, επιτρέπει τη διαπίδυση των λευκοκυττάρων προς τους ιστούς.⁶⁴ Πρόσφατες μελέτες καταδεικνύουν ότι ο TNF-α αυξάνει την έκφραση του CD146 στο ενδοθήλιο και αποδεικνύουν ότι διαδραματίζει ρόλο και στη φλεγμονώδη απάντηση. Εμπλέκεται στη διαπίδυση των μονοκυττάρων διά μέσου της ενδοθηλιακής στιβάδας, συνδεδεμένο με άγνωστο προς το παρόν υποδοχέα που φέρουν στη μεμβράνη τους τα μονοκύτταρα.^{65,66}

Πρόσφατα, περιγράφηκε η διαλυτή μορφή του μορίου sCD146 (soluble CD146) στο υπερκείμενο καλλιέργειας ανθρώπινων ενδοθηλιακών κυττάρων.⁶⁷ Είναι πλέον γνωστό ότι

συντίθεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα στην καλλιέργεια ως πρόδρομη μορφή, με προοδευτική εμφάνιση της ώριμης γλυκοπρωτεΐνης στην κυτταρική μεμβράνη και, τελικά, την παρουσία της διαλυτής μορφής (sCD146) στο θεραπευτικό υλικό της καλλιέργειας.⁶⁷ Στη συνέχεια καταδείχθηκε η παρουσία του διαλυτού CD146 και στο πλάσμα υγιών ατόμων, όπου αποδίδεται στο φυσιολογικό μεταβολικό κύκλο των πρωτεϊνών προσκόλλησης της ενδοθηλιακής συνένωσης.⁶⁸

Δεδομένης της δυσκολίας εξερεύνησης του ενδοθηλίου *in vivo*, η ανακάλυψη δεικτών ενεργοποίησής του στο πλάσμα συνιστά μια πολύ ελκυστική εναλλακτική ιδέα, στη σύγχρονη έρευνα. Τα επίπεδα του sCD146 έχουν ήδη αξιολογηθεί σε πολλές κατηγορίες ασθενών. Οι πρώτες αναφορές συσχετίζουν το sCD146 με την εξέλιξη και τη μετάσταση του μελανώματος,^{69,70} ενώ δεν στοιχειοθετούνται παρόμοια συμπεράσματα σε άλλες μορφές καρκίνου όπως του μαστού⁷¹ ή στο πολλαπλό μυέλωμα.⁷² Αυξημένα επίπεδα CD146 παρατηρούνται σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, καθώς και σε ασθενείς με ενεργό φλεγμονώδη νόσο του εντέρου, σχετιζόμενα προφανώς με αλλαγές της λειτουργίας του ενδοθηλίου – αυξημένη διαπερατότητα και αγγειογένεση.^{68,73,74} Ομοίως, τα αυξημένα επίπεδα CD146 συσχετίζονται με την ανάπτυξη αθηρωμάτωσης, καθώς εμπλέκονται στη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, στη διαπίδυση των μονοκυττάρων και στη φλεγμονώδη αντίδραση.^{66,75} Πρόσφατα, έχει μελετηθεί η συμμετοχή του CD146 στην ανάπτυξη του αγγειακού δικτύου του πλακούντα και η συμβολή του στη διείσδυση της τροφοβλάστης,⁷⁶ ενώ τα αυξημένα επίπεδα συσχετίστηκαν με μαιευτικές επιπλοκές και κατ'έξοχήν με αποβολές.^{77,78} Τέλος, αυξημένα επίπεδα των μορίων προσκόλλησης των ενδοθηλιακών συνενώσεων sCD146 και των διαλυτών μορίων προσκόλλησης αιμοπεταλίου-ενδοθηλιακών κυττάρων (soluble platelet endothelial cell adhesion molecule, sPECAM) έχουν βρεθεί σε ασθενείς με ιδιοπαθείς φλεγμονώδεις μυοπάθειες και ιδιαίτερα στην πολυμυοσίτιδα.⁷⁹

Ωστόσο, δεν υπάρχουν προς το παρόν μελέτες που να αξιολογούν τα επίπεδα του sCD146 σε ασθενείς με ηπατική νόσο ή κίρρωση, αν και είναι γνωστή η εμπλοκή του ενδοθηλίου και της αγγειογένεσης στην παθογένειά τους.

Πρόσφατα, μελετήσαμε τα επίπεδα του sCD146 με ανοσοενζυμική μέθοδο (ELISA) σε 69 κίρρωτικούς ασθενείς και σε ομάδα ελέγχου που περιλάμβανε υγιείς αιμοδότες. Οι ασθενείς, συγκρινόμενοι με τους υγιείς, είχαν σαφώς υψηλότερες διάμεσες τιμές (535 έναντι 318 ng/mL), ενώ η τιμή του ορίου διάκρισης (cut-off), που ήταν 383 ng/mL, έδειξε ευαισθησία 74% και ειδικότητα 80% για τη διάγνωση της κίρρωσης (c-statistic: 0,81). Ακολούθως, οι ασθενείς χωρίστηκαν σε δύο ομάδες: Αντιρροπούμενη (Child A) και

μη αντιρροπούμενη κίρρωση (Child B, C). Η ομάδα με την αντιρροπούμενη κίρρωση είχε χαμηλότερες τιμές sCD146 συγκρινόμενη με την αντίστοιχη της μη αντιρροπούμενης κίρρωσης (377 έναντι 809 ng/mL), με την τιμή cut-off να προσεγγίζει τα 534 ng/mL και να παρέχει ευαισθησία 76% και ειδικότητα 81% στη διαφορική διάγνωση μεταξύ αντιρροπούμενων και μη αντιρροπούμενων περιπτώσεων κίρρωσης (c-statistic: 0,83). Επί πλέον, τα επίπεδα sCD146 έδειξαν θετική συσχέτιση με τις τιμές της ασπαρτικής αμινοτρανσφεράσης (aspartate transaminase, AST) και της χολερυθρίνης, αλλά κυρίως με τις τιμές INR (International Normalized Ratio) και του μοντέλου τελικού σταδίου της ηπατικής νόσου (model of end stage liver disease, MELD) ($r=0,611$, $p<0,001$ και $r=0,55$, $p<0,001$, αντίστοιχα). Έτσι, τα επίπεδα του sCD146 μπορεί να θεωρηθούν αξιόπιστος βιοδείκτης ενεργοποίησης του ενδοθηλίου – δείκτης αγγειογένεσης και ίνωσης – που σχετίζεται με την πρόοδο της ηπατικής νόσου και την εξέλιξη της κίρρωσης.

3. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ ΣΤΗΝ ΚΙΡΡΩΣΗ

3.1. Αγγειογένεση – φλεγμονή – ίνωση

Η παθογένεια της ίνωσης στην ηπατική κίρρωση παραμένει σε μεγάλο βαθμό αδιευκρίνιστη. Ο αγγειοβριθής ινώδης ιστός που περιβάλλει τους αναγεννητικούς ηπατικούς όζους υποδηλώνει τη συμμετοχή της αγγειογένεσης στην παθογένεια, ενώ και η φλεγμονώδης αντίδραση φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο.^{80–82}

Η αγγειογένεση, μια δυναμική διαδικασία εξαρτώμενη από αυξητικούς παράγοντες και ενεργοποιούμενη από την υποξία,^{83,84} παρατηρείται στα χρόνια νοσήματα του ήπατος, ανεξαρτήτως αιτιολογίας, και ευνοεί την ανάπτυξη ίνωσης και την εξέλιξη σε κίρρωση.^{82,85,86} Επί πλέον, η αγγειογένεση σχετίζεται με τις μεταβολές της αγγειακής ηπατικής αρχιτεκτονικής και την ελαττωμένη αιμάτωση του παρεγχύματος στην κίρρωση, ρυθμίζει τη δημιουργία των πυλαιο-συστηματικών αναστομώνσεων και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση επιπλοκών, όπως στην ανάπτυξη του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος.⁸²

Σύγχρονες μελέτες υποστηρίζουν ότι η διαδικασία της ινογένεσης και της αγγειογένεσης στο κίρρωτικό ήπαρ συμβαίνουν και ανιχνεύονται παράλληλα, με πολύπλοκους μοριακούς μηχανισμούς να διέπουν την αμφίδρομη επικοινωνία μεταξύ των κυττάρων που πρωταγωνιστούν σε αμφοτέρως τις διαδικασίες.^{82,87} Η εναπόθεση εξωκυττάριας ουσίας στα διαστήματα του Disse και η διαταραχή των κολποειδών οδηγούν σε υποξία και έκλυση αγγειογενετικών παραγόντων –όπως ο VEGF– από τα ηπατοκύτταρα.^{82,87,88} Έτσι αρχίζει η επικοινωνία μεταξύ των ηπατοκυττάρων

και των περίξ μη παρεγχυματικών κυττάρων, όπως των ενδοθηλιακών κυττάρων των κολλοειδών και των μυοϊνοβλαστών/αστεροειδών κυττάρων. Ο VEGF αφ' ενός προάγει τον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων και αφ' ετέρου, σε συνεργασία με άλλες αγγειογενετικές κυτταροκίνες, ενεργοποιεί τον πολλαπλασιασμό των αστεροειδών κυττάρων και την παραγωγή κολλαγόνου τύπου I.^{72,82,87} Ωστόσο, και τα ίδια τα αστεροειδή κύτταρα είναι σημαντική πηγή παραγωγής αγγειογενετικών κυτταροκινών, όπως VEGF και αγγειοποιητίνης 1 (Ang-1), σε καταστάσεις υποξίας αλλά και σε χρόνια ηπατική βλάβη πιθανώς και μέσω της δράσης προφλεγμονωδών κυτταροκινών.^{80,87,89,90} Είναι επίσης γνωστή η σχέση φλεγμονής-αγγειογένεσης, καθώς τα νέα αγγεία συμβάλλουν σημαντικά στη διατήρηση της φλεγμονής, αλλά και στη μετάπτωση από την οξεία στη χρόνια φλεγμονώδη αντίδραση.^{82,91}

Τα αστεροειδή κύτταρα συνιστούν τα κύτταρα-κλειδιά που ενεργοποιούνται από την υποξία και μια πλειάδα χυμοκινών και κυτταροκινών, στο «σταυροδρόμι» της επικοινωνίας μεταξύ της αγγειογένεσης, της φλεγμονής και της ίνωσης. Κατέχοντας στρατηγική θέση μεταξύ ηπατοκυττάρων και ενδοθηλιακών κυττάρων, τα αστεροειδή κύτταρα αποτελούν στόχο αλλά και πηγή παραγωγής αγγειογενετικών παραγόντων και κυτταροκινών φλεγμονής και ενορρηστρώνουν με θαυμαστό τρόπο τις διεργασίες της ίνωσης, της αγγειογένεσης και της φλεγμονής.^{92,93}

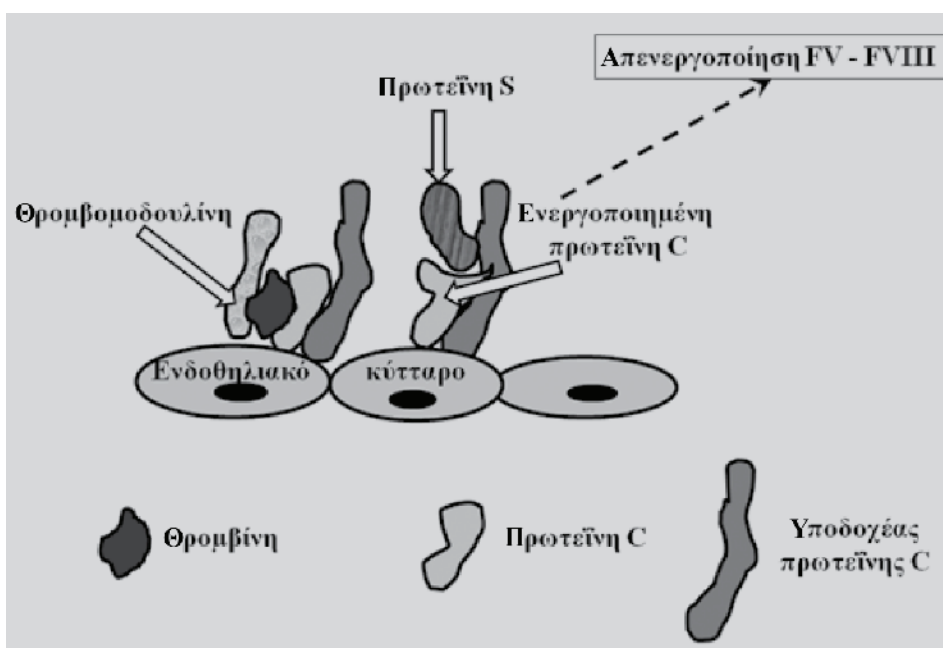
3.2. Διαταραχές της αιμόστασης και ίνωση

Η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου σχετίζεται με την αντί-

σταση στη θρομβομοδουλίνη (thrombomodulin, TM) που παρατηρείται στους ασθενείς με κίρρωση.^{94,95} Η θρομβομοδουλίνη είναι ο ενδοθηλιακός υποδοχέας της θρομβίνης, μέσω του οποίου η θρομβίνη συνδεόμενη με την πρωτεΐνη C απενεργοποιεί τον ενεργοποιημένο παράγοντα VIII (FVIIIa) και τον ενεργοποιημένο παράγοντα V (FVa) (εικ. 5). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία υπερ-πηκτικής κατάστασης, η οποία επιδεινώνεται καθώς εξελίσσεται η κίρρωση και ευθύνεται εν μέρει για τις θρομβωτικές επιπλοκές, που επίσης αυξάνουν στους ασθενείς με μη αντιρροπούμενη κίρρωση σε σύγκριση με την αντιρροπούμενη.^{94,96}

Οι παθογενετικοί μηχανισμοί που συσχετίζουν την υπερ-πηκτικότητα με την ίνωση πιθανολογούνται ως εξής: Η έκπτωση των ανασταλτών της πήξης, ιδιαίτερα της πρωτεΐνης C, ή η αύξηση του FVIIIa (κυρίως μέσω της αντίστασης της θρομβομοδουλίνης) οδηγούν στη δημιουργία μικροθρομβώσεων, ιστικής υποξίας και νεκρώσεων στο ηπατικό παρέγχυμα, που έχουν ως αποτέλεσμα την αντικατάστασή του από ινώδη ιστό. Επί πλέον, πιθανολογείται και απ' ευθείας ενεργοποίηση των αστεροειδών κυττάρων από τη θρομβίνη διαμέσου των υποδοχέων ενεργοποίησης μέσω πρωτεασών-1 (protease activated receptors, PAR-1) που φέρουν τα κύτταρα αυτά.⁹⁷

Κλινικές μελέτες επιβεβαίωσαν τη θεωρία ότι η υπερπηκτικότητα συμβάλλει στην παθογένεια της ίνωσης. Η ετεροζυγωτία της μετάλλαξης FVLeiden σε ασθενείς με λοίμωξη από ιό της ηπατίτιδας C (hepatitis C virus, HCV) σχετίζεται με τριπλάσιο κίνδυνο ταχείας εξέλιξης της ίνωσης σε κίρρωση,⁹⁸ ενώ η έκπτωση της πρωτεΐνης C, η αύξηση



Εικόνα 5. Ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C από τη θρομβίνη στη μεμβράνη του ενδοθηλιακού κυττάρου (από Tripodi και Mannucci τροποποιημένο).¹⁰¹

του FVIII και η υπερομοκυστεϊναιμία ομοίως σχετίζονται με προχωρημένη ίνωση σε HCV (+) ασθενείς.⁹⁹ Αντίθετα, η φυσική ιστορία της ηπατικής νόσου σε HCV (+), HIV (-) ασθενείς με αιμορροφιλία δείχνει βραδεία εξέλιξη της ίνωσης και χαμηλή θνητότητα (3%) από ηπατικές επιπλοκές.¹⁰⁰ Φαίνεται όντως ότι ενώ η προθρομβωτική κατάσταση προάγει την ίνωση, η αντιθρομβωτική σχετίζεται με βραδεία εξέλιξη της ηπατικής νόσου προς την κίρρωση.

Πράγματι, τα πρόσφατα στοιχεία των σύγχρονων μελετών άλλαξαν την αντίληψή μας σχετικά με την αιμόσταση στον κίρρωτικό ασθενή. Παρ' ότι οι παρατεταμένοι χρόνοι πήξης των δοκιμασιών ρουτίνας (χρόνος προθρομβίνης, prothrombin time [PT], χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης, activated partial thromboplastin time [APTT]) δηλώνουν αιμορραγική διάθεση, η φυσιολογική ή και η αυξημένη παραγωγή θρομβίνης που παρατηρείται στον ασθενή με κίρρωση αναθεωρεί την πεποίθηση ότι ο ηπατοπαθής πρωτίστως αιμορραγεί.¹⁰¹ Η αιμορραγική διάθεση της προχωρημένης κίρρωσης δεν πρέπει να αποδίδεται στην αιμοστατική διαταραχή, αλλά μάλλον σε μηχανισμούς άλλους που ευνοούν την αιμορραγία, όπως η βακτηριακή λοίμωξη, η νεφρική ανεπάρκεια, η πυλαία υπέρταση και η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου.^{96,101} Ο ρόλος της υπερ-ινωδόλυσης, αν και δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως, φαίνεται να ευνοεί την αιμορραγία.^{96,101} Ωστόσο, η ελάττωση της σύνθεσης των παραγόντων πήξης αντισταθμίζεται από τη σύγχρονη έκπτωση των ανασταλτών, ενώ και η θρομβοπάθεια της κίρρωσης αμφισβητείται πλέον. Αντίθετα, η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου που παρατηρείται στην κίρρωση και η απώλεια του «προστατευτικού» αντιθρομβωτικού ρόλου του, καθώς και η παρατηρούμενη αύξηση του παράγοντα von Willebrand, πιθανόν να προάγουν την προσκόλληση και τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων.^{101,102} Η επικρατούσα λοιπόν άποψη ότι οι κίρρωτικοί ασθενείς έχουν φυσική αντιπηξία θεωρείται πλέον μύθος. Όχι μόνο δεν έχουν προστασία αλλά παρουσιάζουν συχνά και εκδηλώσεις θρομβοεμβολικής νόσου. Οι εκδηλώσεις αυτές μπορεί να είναι «σιωπηλές», όπως η εξέλιξη της ίνωσης που προαναφέρθηκε, ενδέχεται όμως να είναι και κλινικά έκδηλες όπως με φλεβοθρόμβωση, πνευμονική εμβολή

ή θρόμβωση της πυλαίας φλέβας.¹⁰¹⁻¹⁰³ Αρκετές μελέτες, όπως πρόσφατα αυτή από τη Δανία,¹⁰⁴ παρουσιάζουν μεγαλύτερα ποσοστά φλεβοθρόμβωσης στους ηπατοπαθείς σε σύγκριση με άτομα χωρίς ηπατική νόσο, θεωρώντας κατ' εξοχήν υπαίτιους τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου με την αντίσταση στη θρομβομοδουλίνη, την έκπτωση των ανασταλτών της πήξης και την αύξηση του FVIII. Επίσης, η επίπτωση της θρόμβωσης της πυλαίας φλέβας αυξάνει καθώς επιδεινώνεται η κίρρωση και είναι πλέον έκδηλη η θρομβοφιλία (από 1% στην αντιρροπούμενη σε 8-25% στη μη αντιρροπούμενη κίρρωση).¹⁰¹

4. ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ ΚΑΙ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Οι παρατηρήσεις ότι η κίρρωση μπορεί ενδεχομένως να υποχωρήσει όταν ο παράγοντας που πυροδοτεί την ίνωση εξαλειφθεί, μπορεί να ερμηνευτούν από τη δυναμική διαδικασία της ινογένεσης και της ινόλυσης.¹⁰⁵ Οι θεραπευτικοί στόχοι διακρίνονται στην πρωτογενή αγωγή αναχαίτισης της ίνωσης που στοχεύει στην υποκείμενη νόσο, όπως για παράδειγμα στην HCV-λοίμωξη και στη λοίμωξη από ιό της ηπατίτιδας Β (hepatitis B virus, HBV), και στη δευτερογενή, η οποία θα στοχεύει αμιγώς στην ινογένεση, ανεξάρτητα από την αιτιολογία της κίρρωσης.

Η έρευνα πλέον εστιάζεται κυρίως στους φαρμακολογικούς παράγοντες που στοχεύουν στις οδούς της ινογένεσης και αναστέλλουν την ίνωση, όπως οι αναστολείς της αγγειογένεσης (π.χ. ανταγωνιστές VEGF-υποδοχέα 1 και 2), αλλά και στην ανεύρεση μη επεμβατικών νέων δεικτών της διαδικασίας της ίνωσης, όπως βιοδεικτών ενεργοποίησης του ενδοθηλίου-αγγειογένεσης, που θα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παρακολούθηση των εν λόγω φαρμάκων.

Ενδεχομένως, η χορήγηση αντιπηκτικής αγωγής να αποτελέσει τρόπο αναχαίτισης της ίνωσης και να επιβραδύνει την εξέλιξη της κίρρωσης.^{96,97,101} Απαιτείται όμως μεγάλη προσοχή στην επιλογή των ασθενών που ενδεχομένως θα ωφεληθούν και βέβαια χρειάζεται να πραγματοποιηθούν πρώτα οι ανάλογες κλινικές μελέτες.

ABSTRACT

Endothelial dysfunction and cirrhosis of the liver

Ε. ΝΟΜΙΚΟΥ,¹ Σ.Π. ΔΟΥΡΑΚΗΣ²¹First Regional Transfusion and Hemophilia Centre, "Hippokraton" General Hospital, Athens,²Second Department of Internal Medicine, National and Kapodistrian University of Athens,

Medical School, "Hippokraton" General Hospital, Athens, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2014, 31(2):137–149

Cirrhosis of the liver is a chronic liver disease characterized by diffuse fibrosis and distortion of the normal nodular architecture of the organ. The pathogenesis of fibrosis in hepatic cirrhosis remains, to a great extent, obscure. The presence of highly vascularized fibrous tissue surrounding the regenerative hepatic nodules suggests that both angiogenic and inflammatory factors are involved in the pathogenesis of the disease. Hepatic stellate cells, which are activated by hypoxia, and a variety of chemokines and cytokines appear to be the key cells at the "crossroads" of communication between angiogenesis, inflammation and fibrosis. Strategically positioned between hepatic and endothelial cells, they are the target and also the source of angiogenic factors and cytokines, and they can finely orchestrate the processes of fibrosis, angiogenesis and inflammation. The endothelium, an organ with great heterogeneity in structure and function and a variety of physiological properties, is involved in the pathogenesis of cirrhosis. Endothelial dysfunction is involved in angiogenesis and inflammation and recently the endothelium has also been linked to the hypercoagulability in cirrhosis which promotes fibrogenesis. This is a review of current concepts of the pathogenesis of cirrhosis and potential for reversal. Endothelial junctions, namely regions of the endothelium with complex structure expressing activation, which had not so far been studied in cirrhosis, are also described.

Key words: Angiogenesis, Cirrhosis, Endothelial marker, Liver, sCD146

Βιβλιογραφία

- ANTHONY PP, ISHAK KG, NAYAK NC, POULSEN HE, SCHEUER PJ, SOBIN LH. The morphology of cirrhosis. Recommendations on definition, nomenclature, and classification by a working group sponsored by the World Health Organization. *J Clin Pathol* 1978, 31:395–414
- ΔΕΛΛΑΔΕΤΣΙΜΑ Ι, ΓΙΑΣΛΑΚΙΩΤΗΣ Κ. Ίνωση-κίρρωση. Στο: *Κλινική Ηπατολογία*. Εκδόσεις Επιστημονικών Βιβλίων και Περιοδικών University Studio Press, Θεσσαλονίκη, 2011:79–89
- WYNN TA. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J Pathol* 2008, 214:199–210
- FAUSTO N, CAMPBELL JS, RIEHLE KJ. Liver regeneration. *Hepatology* 2006, 43(Suppl 2):S45–S53
- FAUSTO N. Liver regeneration and repair: Hepatocytes, progenitor cells, and stem cells. *Hepatology* 2004, 39:1477–1487
- GRESSNER OA, RIZK MS, KOVALENKO E, WEISKIRCHEN R, GRESSNER AM. Changing the pathogenetic roadmap of liver fibrosis? Where did it start; where will it go? *J Gastroenterol Hepatol* 2008, 23:1024–1035
- ENG FJ, FRIEDMAN SL. Transcriptional regulation in hepatic stellate cells. *Semin Liver Dis* 2001, 21:385–395
- DONG Z, WEI H, SUN R, TIAN Z. The roles of innate immune cells in liver injury and regeneration. *Cell Mol Immunol* 2007, 4:241–252
- FRIEDMAN SL, ROLL FJ, BOYLES J, BISSEL DM. Hepatic lipocytes: The principal collagen-producing cells of normal rat liver. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985, 82:8681–8685
- KORDES C, SAWITZA I, MÜLLER-MARBACH A, ALE-AGHA N, KEITEL V, KLONOWSKI-STUMPE H ET AL. CD133+ hepatic stellate cells are progenitor cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2007, 352:410–417
- LEE JS, SEMELA D, IREDALE J, SHAH VH. Sinusoidal remodeling and angiogenesis: A new function for the liver-specific pericyte? *Hepatology* 2007, 45:817–825
- FRIEDMAN SL. Mechanisms of disease: Mechanisms of hepatic fibrosis and therapeutic implications. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2004, 1:98–105
- FERNÁNDEZ M, SEMELA D, BRUIX J, COLLE I, PINZANI M, BOSCH J. Angiogenesis in liver disease. *J Hepatol* 2009, 50:604–620
- SCHAFFNER F, POPPER H. Capillarization of hepatic sinusoids in man. *Gastroenterology* 1963, 44:239–242
- ZIPPRICH A. Hemodynamics in the isolated cirrhotic liver. *J Clin Gastroenterol* 2007, 41(Suppl 3):S254–S258
- CARMELIET P. Angiogenesis in life, disease and medicine. *Nature* 2005, 438:932–936
- SCHUPPAN D, AFDHAL NH. Liver cirrhosis. *Lancet* 2008, 371:838–851
- CINES DB, POLLAK ES, BUCK CA, LOSCALZO J, ZIMMERMAN GA, McEVER RP ET AL. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood* 1998, 91:3527–3561
- AUGUSTIN HG, KOZIAN DH, JOHNSON RC. Differentiation of endothelial cells: Analysis of the constitutive and activated en-

- dothelial cell phenotypes. *Bioessays* 1994, 16:901–906
20. AIRD WC. Endothelial cell heterogeneity. *Crit Care Med* 2003, 31(Suppl 4):S221–S230
 21. DEJANA E. Endothelial adherens junctions: Implications in the control of vascular permeability and angiogenesis. *J Clin Invest* 1996, 98:1949–1953
 22. WISSE E. An electron microscopic study of the fenestrated endothelial lining of rat liver sinusoids. *J Ultrastruct Res* 1970, 31:125–150
 23. NITTA T, HATA M, GOTOH S, SEO Y, SASAKI H, HASHIMOTO N ET AL. Size-selective loosening of the blood-brain barrier in claudin-5-deficient mice. *J Cell Biol* 2003, 161:653–660
 24. MIDDLETON J, NEIL S, WINTLE J, CLARK-LEWIS I, MOORE H, LAM C ET AL. Transcytosis and surface presentation of IL-8 by venular endothelial cells. *Cell* 1997, 91:385–395
 25. WONG J, JOHNSTON B, LEE SS, BULLARD DC, SMITH CW, BEAUDET AL ET AL. A minimal role for selectins in the recruitment of leukocytes into the inflamed liver microvasculature. *J Clin Invest* 1997, 99:2782–2790
 26. BUTCHER EC, PICKER LJ. Lymphocyte homing and homeostasis. *Science* 1996, 272:60–66
 27. BREIER G, RISAU W. The role of vascular endothelial growth factor in blood vessel formation. *Trends Cell Biol* 1996, 6:454–456
 28. MUSTONEN T, ALITALO K. Endothelial receptor tyrosine kinases involved in angiogenesis. *J Cell Biol* 1995, 129:895–898
 29. BLANN AD, WOYWODT A, BERTOLINI F, BULL TM, BUYON JP, CLANCY RM ET AL. Circulating endothelial cells. Biomarker of vascular disease. *Thromb Haemost* 2005, 93:228–235
 30. ROWAND JL, MARTIN G, DOYLE GV, MILLER MC, PIERCE MS, CONNELLY MC ET AL. Endothelial cells in peripheral blood of healthy subjects and patients with metastatic carcinomas. *Cytometry A* 2007, 71:105–113
 31. BERTOLINI F, SHAKED Y, MANCUSO P, KERBEL RS. The multifaceted circulating endothelial cells in cancer: Towards marker and target identification. *Nat Rev Cancer* 2006, 6:835–845
 32. OBERTI F, VALSESIA E, PILETTE C, ROUSSELET MC, BEDOSSA P, AUBÉ C ET AL. Noninvasive diagnosis of hepatic fibrosis or cirrhosis. *Gastroenterology* 1997, 113:1609–1616
 33. LOC AS, GHANY MG, GOODMAN ZD, WRIGHT EC, EVERSON GT, STERLING RK ET AL. Predicting cirrhosis in patients with hepatitis C based on standard laboratory tests: Results of the HALT-C cohort. *Hepatology* 2005, 42:282–292
 34. SALCEDO X, MEDINA J, SANZ-CAMENO P, GARCÍA-BUEY L, MARTÍN-VILCHEZ S, MORENO-OTERO R. Review article: Angiogenesis soluble factors as liver disease markers. *Aliment Pharmacol Ther* 2005, 22:23–30
 35. MEDINA J, CAVEDA L, SANZ-CAMERO P, ARROYO AG, MARTÍN-VILCHEZ S, MAJANO PL ET AL. Hepatocyte growth factor activates endothelial proangiogenic mechanisms relevant in chronic hepatitis C-associated neoangiogenesis. *J Hepatol* 2003, 38:660–667
 36. SIEGHART W, FELLNER S, REIBERGER T, ULBRICH G, FERLITSCH A, WACHECK V ET AL. Differential role of circulating endothelial progenitor cells in cirrhotic patients with or without hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis* 2009, 41:902–906
 37. ABDELMONEIM SS, TALWALKAR J, SETHI S, KAMATH P, FATHALLA MM, KIPP BR ET AL. A prospective pilot study of circulating endothelial cells as a potential new biomarker in portal hypertension. *Liver Int* 2010, 30:191–197
 38. KAUR S, TRIPATHI D, DONGRE K, GARG V, ROOGE S, MUKOPADHYAY A ET AL. Increased number and function of endothelial progenitor cells stimulate angiogenesis by resident liver sinusoidal endothelial cells (SECs) in cirrhosis through paracrine factors. *J Hepatol* 2012, 57:1193–1198
 39. CHEN CH, CHANG LT, TUNG WC, CHEN YL, CHANG CL, LEU S ET AL. Levels and values of circulating endothelial progenitor cells, soluble angiogenic factors, and mononuclear cell apoptosis in liver cirrhosis patients. *J Biomed Sci* 2012, 19:66
 40. MEDINA J, SANZ-CAMENO P, GARCÍA-BUEY L, MARTÍN-VILCHEZ S, LÓPEZ-CABRERA M, MORENO-OTERO R. Evidence of angiogenesis in primary biliary cirrhosis: An immunohistochemical descriptive study. *J Hepatol* 2005, 42:124–131
 41. DEJANA E, LAMPUGNANI MG, MARTINEZ-ESTRADA O, BAZZONI G. The molecular organization of endothelial junctions and their functional role in vascular morphogenesis and permeability. *Int J Dev Biol* 2000, 44:743–748
 42. BAZZONI G, DEJANA E. Endothelial cell-to-cell junctions: Molecular organization and role in vascular homeostasis. *Physiol Rev* 2004, 84:869–901
 43. DEJANA E, ORSENIGO F, MOLENDINI C, BALUK P, McDONALD DM. Organization and signaling of endothelial cell-to-cell junctions in various regions of the blood and lymphatic vascular trees. *Cell Tissue Res* 2009, 335:17–25
 44. LAMPUGNANI MG, DEJANA E. Interendothelial junctions: Structure, signaling and functional roles. *Curr Opin Cell Biol* 1997, 9:674–682
 45. IMHOF BA, AURRAND-LIONS M. Adhesion mechanisms regulating the migration of monocytes. *Nat Rev Immunol* 2004, 4:432–444
 46. LIEBNER S, CAVALLARO U, DEJANA E. The multiple languages of endothelial cell-to-cell communication. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006, 26:1431–1438
 47. LAMPUGNANI MG, DEJANA E. Adherens junctions in endothelial cells regulate vessel maintenance and angiogenesis. *Thromb Res* 2007, 120(Suppl 2):S1–S6
 48. DEJANA E. Endothelial cell-cell junctions: Happy together. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004, 5:261–270
 49. ELICEIRI BP, PAUL R, SCHWARTZBERG PL, HOOD JD, LENG J, CHERESH DA. Selective requirement for Src kinases during VEGF-induced angiogenesis and vascular permeability. *Mol Cell* 1999, 4:915–924
 50. ILAN N, MADRI JA. PECAM-1: Old friend, new partners. *Curr Opin Cell Biol* 2003, 15:515–524
 51. MULLER WA. Leukocyte-endothelial-cell interactions in leukocyte transmigration and the inflammatory response. *Trends Immunol* 2003, 24:327–334
 52. ANFOSSO F, BARDIN N, FRANCES V, VIVIER E, CAMOIN-JAU L, SAMPOL J ET AL. Activation of human endothelial cells via S-endo-1 antigen (CD146) stimulates the tyrosine phosphorylation of focal adhesion kinase p125(FAK). *J Biol Chem* 1998, 273:26852–26856
 53. BARDIN N, ANFOSSO F, MASSÉ JM, CRAMER E, SABATIER F, LE BIVIC A

- ET AL. Identification of CD146 as a component of the endothelial junction involved in the control of cell-cell cohesion. *Blood* 2001, 98:3677–3684
54. KOUKOULIS GK, PATRIARCA C, GOULD VE. Adhesion molecules and tumor metastasis. *Hum Pathol* 1998, 29:889–892
 55. SHIH IM. The role of CD146 (Mel-CAM) in biology and pathology. *J Pathol* 1999, 189:4–11
 56. LEHMANN JM, RIETHMÜLLER G, JOHNSON JP. MUC18, a marker of tumor progression in human melanoma, shows sequence similarity to the neural cell adhesion molecules of the immunoglobulin superfamily. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989, 86:9891–9895
 57. BARDIN N, GEORGE F, MUTIN M, BRISSON C, HORSCHOWSKI N, FRANCÉS V ET AL. S-Endo 1, a pan-endothelial monoclonal antibody recognizing a novel human endothelial antigen. *Tissue Antigens* 1996, 48:531–539
 58. SHIH IM, NESBIT M, HERLYN M, KURMAN RJ. A new Mel-CAM (CD146)-specific monoclonal antibody, MN-4, on paraffin-embedded tissue. *Mod Pathol* 1998, 11:1098–1106
 59. BARDIN N, FRANCÉS V, LESAULE G, HORSCHOWSKI N, GEORGE F, SAMPOL J. Identification of the S-Endo 1 endothelial-associated antigen. *Biochem Biophys Res Commun* 1996, 218:210–216
 60. ANFOSSO F, BARDIN N, VIVIER E, SABATIER F, SAMPOL J, DIGNAT-GEORGE F. Outside-in signaling pathway linked to CD146 engagement in human endothelial cells. *J Biol Chem* 2001, 276:1564–1569
 61. YAN X, LIN Y, YANG D, SHEN Y, YUAN M, ZHANG Z ET AL. A novel anti-CD146 monoclonal antibody, AA98, inhibits angiogenesis and tumor growth. *Blood* 2003, 102:184–191
 62. CHAN B, SINHA S, CHO D, RAMCHANDRAN R, SUKHATME VP. Critical roles of CD146 in zebrafish vascular development. *Dev Dyn* 2005, 232:232–244
 63. DAVIS GE, BAYLESS KJ, MAVILA A. Molecular basis of endothelial cell morphogenesis in three-dimensional extracellular matrices. *Anat Rec* 2002, 268:252–275
 64. WEBER C, FRAEMOHS L, DEJANA E. The role of junctional adhesion molecules in vascular inflammation. *Nat Rev Immunol* 2007, 7:467–477
 65. BARDIN N, BLOT-CHABAUD M, DESPOIX N, KEBIR A, HARHOURI K, ARSANTO JP ET AL. CD146 and its soluble form regulate monocyte transendothelial migration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009, 29:746–753
 66. GARIBALDI S, BARISIONE C, GHIGLIOTTI G, SPALLAROSSA P, BARSOTTI A, FABBI P ET AL. Soluble form of the endothelial adhesion molecule CD146 binds preferentially CD16+ monocytes. *Mol Biol Rep* 2012, 39:6745–6752
 67. BARDIN N, FRANCÉS V, COMBES V, SAMPOL J, DIGNAT-GEORGE F. CD146: Biosynthesis and production of a soluble form in human cultured endothelial cells. *FEBS Lett* 1998, 421:12–14
 68. BARDIN N, MOAL V, ANFOSSO F, DANIEL L, BRUNET P, SAMPOL J ET AL. Soluble CD146, a novel endothelial marker, is increased in physiopathological settings linked to endothelial junctional alteration. *Thromb Haemost* 2003, 90:915–920
 69. XIE S, LUCA M, HUANG S, GUTMAN M, REICH R, JOHNSON JP ET AL. Expression of MCAM/MUC18 by human melanoma cells leads to increased tumor growth and metastasis. *Cancer Res* 1997, 57:2295–2303
 70. SATYAMOORTHY K, MUYRERS J, MEIER F, PATEL D, HERLYN M. Mel-CAM-specific genetic suppressor elements inhibit melanoma growth and invasion through loss of gap junctional communication. *Oncogene* 2001, 20:4676–4684
 71. SHIH LM, HSU MY, PALAZZO JP, HERLYN M. The cell-cell adhesion receptor Mel-CAM acts as a tumor suppressor in breast carcinoma. *Am J Pathol* 1997, 151:745–751
 72. WROBEL T, MAZUR G, WOLOWIEC D, JAZWIEC B, SOWINSKA E, KULICZKOWSKI K. sVE-cadherin and sCD146 serum levels in patients with multiple myeloma. *Clin Lab Haematol* 2006, 28:36–39
 73. MALYSZKO J, MALYSZKO JS, BRZOSKO S, WOLCZYNSKI S, MYSLIWIEC M. Adiponectin is related to CD146, a novel marker of endothelial cell activation/injury in chronic renal failure and peritoneally dialyzed patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2004, 89:4620–4627
 74. BARDIN N, REUMAUX D, GEBOES K, COLOMBEL JF, BLOT-CHABAUD M, SAMPOL J ET AL. Increased expression of CD146, a new marker of the endothelial junction in active inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2006, 12:16–21
 75. SAITO O, SAITO T, OKUDA K, OKUDA K, KOTODA A, AKIMOTO T ET AL. Serum adiponectin and markers of endothelial injury in hemodialysis patients with arteriosclerosis obliterans. *Clin Exp Nephrol* 2008, 12:58–64
 76. KASPI E, GUILLET B, PIERCECCHI-MARTI MD, ALFAIDY N, BRETTELLE F, BERTAUD-FOUCAULT A ET AL. Identification of soluble CD146 as a regulator of trophoblast migration: Potential role in placental vascular development. *Angiogenesis* 2013, 16:329–342
 77. KASPI E, CHABAUD MB, GEORGE FD, BARDIN N. Soluble CD146 and APS: A potential biomarker of obstetrical complications? *Lupus* 2012, 21:779–780
 78. PASQUIER E, BARDIN N, DE SAINT MARTIN L, LE MARTELOT MT, BOHEC C, ROCHE S ET AL. The first assessment of soluble CD146 in women with unexplained pregnancy loss. A new insight? *Thromb Haemost* 2005, 94:1280–1284
 79. FIGARELLA-BRANGER D, SCHLEINIZ N, BOUTIÈRE-ALBANÈSE B, CAMOIN L, BARDIN N, GUISS ET AL. Platelet-endothelial cell adhesion molecule-1 and CD146: Soluble levels and *in situ* expression of cellular adhesion molecules implicated in the cohesion of endothelial cells in idiopathic inflammatory myopathies. *J Rheumatol* 2006, 33:1623–1630
 80. NOVO E, CANNITO S, ZAMARA E, VALFRÈ DI BONZO L, CALIGIURI A, CRAVANZOLA C ET AL. Proangiogenic cytokines as hypoxia-dependent factors stimulating migration of human hepatic stellate cells. *Am J Pathol* 2007, 170:1942–1953
 81. CORPECHOT C, BARBU V, WENDUM D, KINNMANN N, REY C, POUPON R ET AL. Hypoxia-induced VEGF and collagen I expressions are associated with angiogenesis and fibrogenesis in experimental cirrhosis. *Hepatology* 2002, 35:1010–1021
 82. PATERNOSTRO C, DAVID E, NOVO E, PAROLA M. Hypoxia, angiogenesis and liver fibrogenesis in the progression of chronic liver diseases. *World J Gastroenterol* 2010, 16:281–288
 83. COULTAS L, CHAWENGSAKSOPHAK K, ROSSANT J. Endothelial cells and VEGF in vascular development. *Nature* 2005, 438:937–945
 84. CARMELIET P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nat Med* 2000, 6:389–395
 85. MEDINA J, ARROYO AG, SÁNCHEZ-MADRID F, MORENO-OTERO R. Angiogenesis in chronic inflammatory liver disease. *Hepatology*

- 2004, 39:1185–1195
86. VALFRÈ DI BONZO L, NOVO E, CANNITO S, BUSLETTA C, PATERNOSTRO C, POVERO D ET AL. Angiogenesis and liver fibrogenesis. *Histol Histopathol* 2009, 24:1323–1341
 87. PAROLA M, MARRA F, PINZANI M. Myofibroblast-like cells and liver fibrogenesis: Emerging concepts in a rapidly moving scenario. *Mol Aspects Med* 2008, 29:58–66
 88. GIATROMANOLAKI A, KOTSIUO S, KOUKOURAKIS MI, SIVRIDIS E. Angiogenic factor expression in hepatic cirrhosis. *Mediators Inflamm* 2007, 2007:67187
 89. TAURA K, DE MINICIS S, SEKI E, HATANO E, IWASAKO K, OSTERREICHER CH ET AL. Hepatic stellate cells secrete angiopoietin 1 that induces angiogenesis in liver fibrosis. *Gastroenterology* 2008, 135:1729–1738
 90. HONG F, TUYAMA A, LEE TF, LOKE J, AGARWAL R, CHENG X ET AL. Hepatic stellate cells express functional CXCR4: Role in stromal cell-derived factor-1 α -mediated stellate cell activation. *Hepatology* 2009, 49:2055–2067
 91. JACKSON JR, SEED MP, KIRCHER CH, WILLOUGHBY DA, WINKLER JD. The codependence of angiogenesis and chronic inflammation. *FASEB J* 1997, 11:457–465
 92. FRIEDMAN SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology* 2008, 134:1655–1669
 93. LEE UE, FRIEDMAN SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011, 25:195–206
 94. TRIPODI A, PRIMIGNANI M, CHANTARANGKUL V, DELL'ERA A, CLERICI M, DE FRANCHIS R ET AL. An imbalance of pro- vs anti-coagulation factors in plasma from patients with cirrhosis. *Gastroenterology* 2009, 137:2105–2111
 95. TRIPODI A, PRIMIGNANI M, LEMMA L, CHANTARANGKUL V, DELL'ERA A, IANNUZZI F ET AL. Detection of the imbalance of procoagulant versus anticoagulant factors in cirrhosis by a simple laboratory method. *Hepatology* 2010, 52:249–255
 96. TRIPODI A, ANSTEE QM, SOGAARD KK, PRIMIGNANI M, VALLA DC. Hypercoagulability in cirrhosis: Causes and consequences. *J Thromb Haemost* 2011, 9:1713–1723
 97. ANSTEE QM, DHAR A, THURSZ MR. The role of hypercoagulability in liver fibrogenesis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2011, 35:526–533
 98. WRIGHT M, GOLDIN R, HELLIER S, KNAPP S, FRODSHAM A, HENNIG B ET AL. Factor V Leiden polymorphism and the rate of fibrosis development in chronic hepatitis C virus infection. *Gut* 2003, 52:1206–1210
 99. POUJOL-ROBERT A, ROSMORDUC O, SERFATY L, COULET F, POUJOL R, ROBERT A. Genetic and acquired thrombotic factors in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2004, 99:527–531
 100. YEE TT, GRIFFIOEN A, SABIN CA, DUSHEIKO G, LEE CA. The natural history of HCV in a cohort of haemophilic patients infected between 1961 and 1985. *Gut* 2000, 47:845–851
 101. TRIPODI A, MANNUCCI PM. The coagulopathy of chronic liver disease. *N Engl J Med* 2011, 365:147–156
 102. LISMAN T, CALDWELL SH, BURROUGHS AK, NORTHUP PG, SENZOLO M, STRAVITZ RT ET AL. Hemostasis and thrombosis in patients with liver disease: The ups and downs. *J Hepatol* 2010, 53:362–371
 103. NORTHUP PG, SUNDARAM V, FALLON MB, REDDY KR, BALOGUN RA, SANYAL AJ ET AL. Hypercoagulation and thrombophilia in liver disease. *J Thromb Haemost* 2008, 6:2–9
 104. SØGAARD KK, HORVÁTH-PUHÓ E, GRØNBÆK H, JEPSEN P, VILSTRUP H, SØRENSEN HT. Risk of venous thromboembolism in patients with liver disease: A nationwide population-based case-control study. *Am J Gastroenterol* 2009, 104:96–101
 105. WANLESS IR, NAKASHIMA E, SHERMAN M. Regression of human cirrhosis. Morphological features and the genesis of incomplete septal cirrhosis. *Arch Pathol Lab Med* 2000, 124:1599–1607
- Corresponding author:*
S.P. Dourakis, 28 Achaia street, GR-115 23 Athens, Greece
e-mail: spdour@med.uoa.gr