



*Μελέτη της φυσικής ανοσίας και των ουδετεροφιλικών εξωκυττάρων παγίδων σε νεοδιαγνωσθέντες υπερτασικούς ασθενείς

A. Λαζαρίδης¹
E. Γαβριηλάκη³
N. Κολέτσος¹
E. Γκαλιαγκούση¹

A. Χρυσανθοπούλου²
E.-E. Κοραβού³
Π. Σκένδρος^{2,4}

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ιδιοπαθής αρτηριακή υπέρταση (ΑΥ) αποτελεί μείζονα, τροποποιήσιμο παράγοντα καρδιαγγειακού κινδύνου και κύρια αιτία καρδιαγγειακής θνητότητας. Η παθογένεσή της είναι περίπλοκη και περιλαμβάνει την αλληλεπίδραση ποικίλων συστημάτων, με κυρίαρχο τον ρόλο του συμπαθητικού νευρικού συστήματος και του άξονα ρενίνης-αγγειοτενσίνης II-αλδοστερόνης¹. Επιπρόσθετα, τα τελευταία χρόνια έχει αναδειχθεί ο ρόλος της χρόνιας υποκλινικής φλεγμονής ως βασικού παθογενετικού μηχανισμού της ΑΥ. Στο πλαίσιο αυτό έχει διαπιστωθεί ότι στο μικροπεριβάλλον της ΑΥ δρουν πολυάριθμοι φλεγμονώδεις μηχανισμοί (π.χ. παραγωγή προ-φλεγμονωδών κυτταροκινών και χημειοκινών, ενεργοποίηση ουδετεροφίλων, οξειδωτικό στρες), οι οποίοι προάγονται και συντηρούνται από την υπέρμετρη δραστηριότητα του ανοσιακού συστήματος². Πιο συγκεκριμένα, στο υπερτασικό περιβάλλον, έχει φανεί ότι συγκεκριμένα ερεθίσματα (π.χ. αγγειοτενσίνη II, αλδοστερόνη) προάγουν την αύξηση της αρτηριακής πίεσης (ΑΠ) οδηγώντας σε ιστική βλάβη και απελευθέρωση ενδο- και εξωκυττάρων μορίων όπως ο παράγοντας «υψηλής κινητικότητας ομάδας κουτί-1 (HMGB1)» που ανήκει στα «μορια-

κά μοτίβα σχετιζόμενα με βλάβη (DAMPs)». Τα DAMPs με τη σειρά τους ενεργοποιούν την ανοσιακή απάντηση και τη φλεγμονώδη απόκριση δημιουργώντας έναν φαύλο κύκλο ιστικής βλάβης και φλεγμονής³.

Η φυσική ανοσία και οι μεσολαβητές της, συμπεριλαμβανομένων των ουδετεροφίλων, κατέχουν εξέχοντα ρόλο ως πρώτη γραμμή άμυνας της ανοσιακής απάντησης. Τα ουδετερόφιλα όταν διεγερθούν παράγουν τις εξωκυττάρειες ουδετεροφιλικές παγίδες (NETs), οι οποίες αποτελούν δίκτυα χρωματίνης από ελεύθερο DNA και ιστόνες [κιτροουλινωμένες ιστόνες (CitH3)], πάνω στα οποία βρίσκονται προσκολλημένες πρωτεΐνες των κοκκίων και του κυτταροπλάσματος όπως η μυελοϋπεροξειδάση (MPO). Οι NETs συνιστούν έναν μηχανισμό (νέτωση) με ισχυρές προ-φλεγμονώδεις και προθρομβωτικές ιδιότητες⁴. Παρομοίως, έχει φανεί ότι ο HMGB1 ενεργοποιεί τη φυσική ανοσία κι ασκεί ισχυρή προ-φλεγμονώδη δράση επάγοντας την απελευθέρωση NETs από τα ουδετερόφιλα, γεγονός το οποίο υπογραμμίζει έναν νέο μηχανισμό διαμέσου του οποίου μπορεί να συμμετάσχει στις μεσολαβόμενες από τα ουδετερόφιλα φλεγμονώδεις αποκρίσεις⁵.

*Η εργασία έχει πάρει βραβείο από την Ελληνική Εταιρεία Υπέρτασης.

¹ Γ' Παθολογική Κλινική, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Γενικό Νοσοκομείο Παπαγεωργίου, Θεσσαλονίκη • ²Εργαστήριο Μοριακής Αιματολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη • ³Αιματολογική Κλινική – Μονάδα Μεταμόσχευσης, Γενικό Νοσοκομείο Γ. Παπανικολάου, Θεσσαλονίκη • ⁴Α' Παθολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Αλεξανδρούπολης, Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αλεξανδρούπολη

✉ **Αλληλογραφία:** Λαζαρίδης Αντώνιος, Επιμελητής Β' Εσωτερικής Παθολογίας, Γ' Παθολογική Κλινική ΑΠΘ • Περιφερειακή οδός – Νέα Ευκαρπία • Τηλ.: 2313323178 • E-mail: panbiol@hotmail.com

Επί του παρόντος, υπάρχουν ελάχιστα δεδομένα για τον ρόλο των NETs και του HMGB1 στην ιδιοπαθή ΑΥ. Για τον σκοπό αυτό, μετρήθηκαν τα επίπεδα NETs και HMGB1 σε νεοδιαγνωσθέντες ασθενείς με ιδιοπαθή ΑΥ χωρίς αγωγή (UHTs) έναντι νορμοτασικών υγιών εθελοντών (NTs) και συσχετίστηκαν μεταξύ τους. Επίσης, μελετήθηκε η επίδραση πλάσματος UHTs σε υγιή ουδετερόφιλα για τη δυνατότητα επαγωγής νέκρωσης. Τέλος, στους UHTs μετρήθηκαν τα επίπεδα NETs προ και μετά χορήγησης αντιυπερτασικής θεραπείας με ανταγωνιστές υποδοχέων I αγγειοτενσίνης II (ARBs).

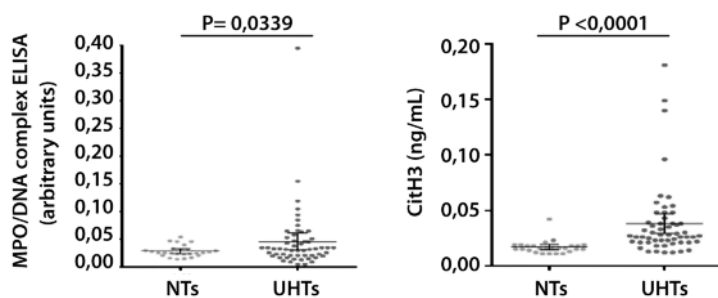
ΜΕΘΟΔΟΙ

Ο προσδιορισμός των NETs (συμπλέγματα MPO/DNA και CitH3) σε όλο τον πληθυσμό έγινε σε EDTA πλάσμα και του HMGB1 σε ορό αίματος με τη χρήση της μεθόδου ELISA. Επίσης, ουδετερόφιλα υγιή-μάρτυρες επωάστηκαν με πλάσμα που προήλθε από τους υπερτασικούς ασθενείς και η πο-

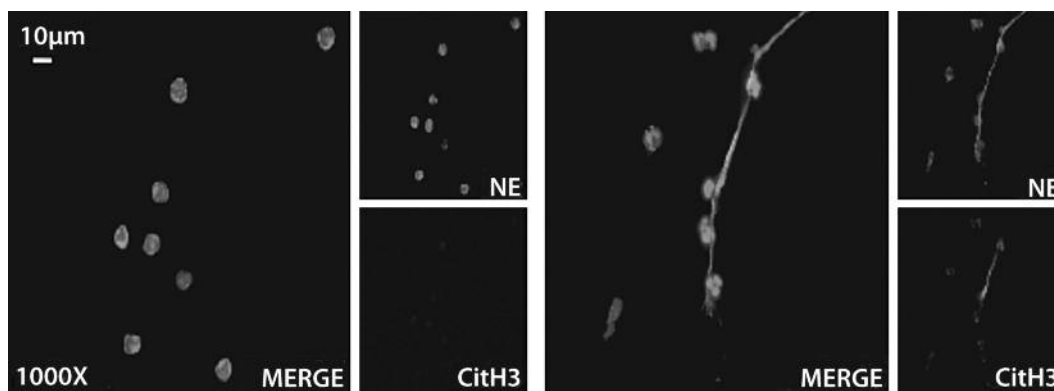
σοστιαία απελευθέρωση NETs από τα υγιή ουδετερόφιλα εκτιμήθηκε με ανοσοφθορισμό.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

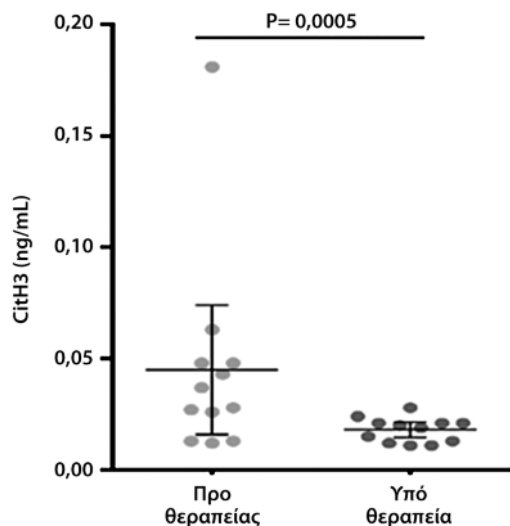
Συνολικά μελετήθηκαν 55 UHTs και 26 NTs σταθμισμένοι ως προς ηλικία και φύλο. Τα επίπεδα των NETs (MPO/DNA, CitH3) ήταν σημαντικά υψηλότερα στους UHTs έναντι των NTs ($p < 0,03$ και $p < 0,0001$ αντίστοιχα, Εικόνα 1). Ακόμη, διαπιστώθηκε ότι το πλάσμα UHTs, όταν επωάζεται με υγιή ουδετερόφιλα, επάγει σημαντικά την παραγωγή NETs από αυτά (Εικόνα 2). Επίσης, σε μια υποομάδα 12 UHTs, διαπιστώθηκε ότι τα επίπεδα CitH3 ήταν σημαντικά χαμηλότερα μετά από θεραπεία με ARBs έναντι προ έναρξης θεραπείας (Εικόνα 3). Τέλος, τα επίπεδα HMGB1 ήταν σημαντικά υψηλότερα σε μια υποομάδα 34 UHTs έναντι 16 NTs ($p = 0,001$, Εικόνα 4). Ωστόσο, τα NETs δεν παρουσίασαν σημαντική συσχέτιση με το HMGB1 στην υποομάδα αυτή ($p = \text{NS}$).



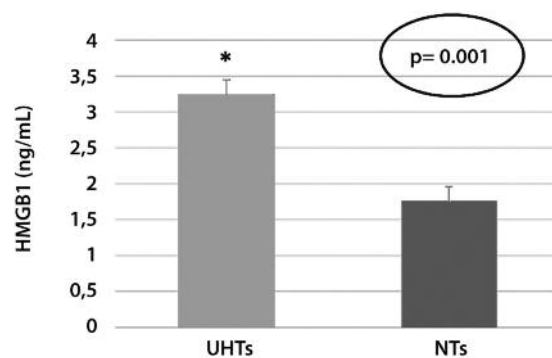
Εικόνα 1. Σύγκριση των επιπέδων της μυελοϋπεροξειδάσης/DNA (MPO/DNA) και των κυτρολλινωμένων ιστονών (CitH3) σε μη θεραπευόμενους νεοδιαγνωσθέντες υπερτασικούς ασθενείς με ιδιοπαθή υπέρταση (UHTs) έναντι νορμοτασικών υγιών εθελοντών (NTs).



Εικόνα 2. Μελέτη ανοσοφθορισμού. Αριστερά απεικονίζονται υγιή ουδετερόφιλα-μάρτυρες. Δεξιά απεικονίζεται η αυξημένη έκφραση εξωκυττάριων ουδετεροφιλικών παγίδων (NETs) όταν τα υγιή ουδετερόφιλα επωάζονται με πλάσμα υπερτασικών ασθενών.



Εικόνα 3. Σύγκριση των επιπέδων των κυτρουλλινομένων ιστονών (CitH3) σε νεοδιαγνωσθέντες υπερτασικούς ασθενείς με ιδιοπαθή υπέρταση προ και μετά θεραπείας με ανταγωνιστές υποδοχέων I αγγειοτενσίνης II.



Εικόνα 4. Σύγκριση των επιπέδων του παράγοντα υψηλής κινητικότητας ομάδας κοντί-1 (HMGB1) σε μη θεραπευόμενους νεοδιαγνωσθέντες υπερτασικούς ασθενείς με ιδιοπαθή υπέρταση (UHTs) έναντι νορμοτασικών υγιών εθελοντών (NTs).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα NETs είναι σημαντικά αυξημένα στους μη θεραπευόμενους υπερτασικούς ασθενείς σε σύγκριση με υγιείς νορμοτασικούς εθελοντές. Πιο σημαντικά, το πλάσμα υπερτασικών μπορεί να επάγει ισχυρή νέτωση όταν επωάζεται με υγιή ουδετερόφιλα ενώ τα επίπεδα NETs ελαττώνονται σημαντικά με την αντιυπερτασική θεραπεία. Ακόμη, ο HMGB1 είναι εξίσου σημαντικά αυξημένος σε νεοδιαγνωσθέντες υπερτασικούς ασθενείς, ωστόσο δεν συσχετίζεται με τα NETs. Με την παρούσα εργασία επιβεβαιώνουμε την ενεργοποίηση του ανοσιακού μηχανισμού με την παρουσία νέτωσης ήδη από τα πολύ πρώιμα στάδια της ΑΥ καθώς και τη δυσμενή επίδραση που έχει η νέτωση σε υγιή κύτταρα. Περαιτέρω, αναδεικνύουμε τα αυξημένα επίπεδα του HMGB1 που αποτελεί έναν δυναμικά σημαντικό, ισχυρό μεσολαβητή της ανοσιακά επαγόμενης φλεγμονώδους απάντησης, με άγνωστο επί του παρόντος ρόλο στο μικροπεριβάλλον της ΑΥ.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Oparil S, Acclajado MC, Bakris G, et al. Hypertension. *Nat Rev Dis Prim* 2018; 4: 18014.
2. Drummond GR, Vinh A, Guzik TJ, Sobey CG. Immune mechanisms of hypertension. *Nat Rev Immunol* 2019; 19(8): 517-32.
3. Gisele F, Bomfim FLR, Carneiro FS. Are the innate and adaptive immune systems setting hypertension on fire? *Pharmacol Res* 2017; 117: 377-93.
4. Boeltz S, Amini P, Anders HJ, et al. To NET or not to NET: current opinions and state of the science regarding the formation of neutrophil extracellular traps. *Cell Death Differ* 2019; 26(3): 395-408.
5. Tadie JM, Bae HB, Jiang S, et al. HMGB1 promotes neutrophil extracellular trap formation through interactions with Toll-like receptor 4. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol* 2013; 304(5): 8-12.