

## Επίπεδα αντιενδοθηλιακών αντισωμάτων σε υγιείς νορμοτασικούς με υψηλή φυσιολογική αρτηριακή πίεση\*

Δ.Π. Παπαδόπουλος

Θ. Μακρής

Ο. Παπαζάχου

Μ. Δασκαλάκη

Π. Κρέσπη

Σ. Βήχος

Α. Χατζηζαχαριάς

Β. Βοττιάς

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η υψηλή φυσιολογική αρτηριακή πίεση (ΥΦΑΠ) φαίνεται να συνδέεται με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο σε υγιείς νορμοτασικούς, ενώ τα αυξημένα επίπεδα αντισωμάτων έναντι των ενδοθηλιακών κυττάρων (αντιενδοθηλιακά αντισώματα – ΑΕΑ) φαίνεται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στα πρώιμα στάδια της διαδικασίας της αθηροσκλήρωσης και στην ανάπτυξη της οριακής (borderline) αρτηριακής υπέρτασης. Σκοπός της μελέτης ήταν να συγκρίνουμε τα επίπεδα των ΑΕΑ σε υγιείς νορμοτασικούς με υψηλή φυσιολογική αρτηριακή πίεση (ΥΦΑΠ), με εκείνα υγιών νορμοτασικών με φυσιολογική αρτηριακή πίεση (ΦΑΠ), ταυτόσημων ως προς την ηλικία, το φύλο και το δείκτη μάζας σώματος. **Μέθοδοι.** Στη μελέτη συμμετείχαν 90 υγιείς νορμοτασικοί με ΥΦΑΠ (43Α και 47Γ), μέσης ηλικίας(ΜΗ)  $48 \pm 2.6$  έτη και δείκτη μάζας σώματος ( $\Delta\text{Μ}\Sigma$ )  $23.6 \pm 1.5 \text{ Kg/m}^2$  (Ομάδα Α) και 80 υγιείς νορμοτασικοί με φυσιολογική αρτηριακή πίεση (41Α και 39Γ), μέσης ηλικίας  $46 \pm 3$  έτη και  $\Delta\text{Μ}\Sigma$   $24 \pm 1.8 \text{ Kg/m}^2$  (Ομάδα Β). Οι δύο ομάδες δε διέφεραν ως προς την ηλικία, το φύλο, το  $\Delta\text{Μ}\Sigma$ . Στον πληθυσμό της μελέτης προσδιορίστηκαν τα επίπεδα των IgG και IgM (ΑΕΑ) με ELISA. **Αποτελέσματα.** Σε 25/90 άτομα της ομάδας Α (28%) βρέθηκαν αυξημένα επίπεδα IgG ΑΕΑ, έναντι 3/80 της ομάδας Β (3.75%,  $p < 0.001$ ). Τα επίπεδα IgM ΑΕΑ ήταν αυξημένα σε 18/90 άτομα της ομάδας Α (20%), έναντι 2/80 της ομάδας Β (2.5%,  $p < 0.001$ ). **Συμπεράσματα.** Τα ευρήματα της μελέτης μας υποδεικνύουν ότι υγιείς νορμοτασικοί με ΥΦΑΠ έχουν σημαντικά αυξημένα επίπεδα αντιενδοθηλιακών αντισωμάτων (IgG και IgM), συγκρινόμενοι με υγιείς νορμοτασικούς με ΦΑΠ. Η παρατήρηση αυτή μπορεί να έχει προγνωστική σημασία για τη μελλοντική ανάπτυξη ΑΥ και καρδιαγγειακών συμβαμάτων στην ειδική αυτή ομάδα ατόμων και χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Είναι αναγνωρισμένο ότι ο καρδιαγγειακός κίνδυνος αυξάνει γραμμικά σε επίπεδα αρτηριακής πίεσης (ΑΠ) χαμηλότερα από αυτά που απαιτούν αντιυπερτασική αγωγή και ειδικά για τιμές Συστολικής Αρτηριακής Πίεσης (ΣΑΠ) 130-135 mmHg και Διαστολικής Αρτηριακής Πίεσης (ΔΑΠ) 80-85 mmHg. Είναι γνω-

στό επίσης ότι οι υγιείς νορμοτασικοί με υψηλή φυσιολογική αρτηριακή πίεση (ΥΦΑΠ) (ΣΑΠ 130-139 mmHg), ή και (ΔΑΠ 85-89 mmHg), εμφανίζουν αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο, συγκρινόμενοι με υγιείς νορμοτασικούς οι οποίοι έχουν φυσιολογική αρτηριακή πίεση (ΦΑΠ), (ΣΑΠ 120-129 και ΔΑΠ 80-84)<sup>1</sup>.

Τα αντιενδοθηλιακά αντισώματα (ΑΕΑ) αποτελούν μια ετερογενή ομάδα αντισωμάτων, τα οποία δρουν ενάντια σε αντιγόνα που βρίσκονται στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων. Μπορούν να ανιχνευθούν σε μια μεγάλη ποικιλία κλινικών καταστάσεων, οι οποίες έχουν σαν κοινή εκδήλωσή τους την αυτοάνοση φλεγμονώδη καταστροφή του αγγειακού τοιχώματος<sup>2</sup>.

Σκοπός της μελέτης μας ήταν να εξετασθεί η υπόθεση σύμφωνα με την οποία, αυξημένα επίπεδα αντιενδοθηλιακών αντισωμάτων υπάρχουν σε υγιείς νορμοτασικούς με ΥΦΑΠ, σε σύγκριση με υγιείς νορμοτασικούς με ΦΑΠ χωρίς ιστορικό καρδιαγγειακής νόσου. Σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία είναι η πρώτη μελέτη, η οποία εξετάζει τα επίπεδα αντιενδοθηλιακών αντισωμάτων σε υγιείς νορμοτασικούς με ΥΦΑΠ.

## ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Μελετήθηκαν 90 (43Α-47Γ) υγιείς νορμοτασικοί με ΥΦΑΠ μέσης ηλικίας (ΜΗ)  $48 \pm 2.6$  έτη και δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ)  $23.6 \pm 1.5$  Kg/m<sup>2</sup> (Ομάδα Α) και 80 υγιείς νορμοτασικοί με φυσιολογική αρτηριακή πίεση (41Α 39Γ), μέσης ηλικίας  $46 \pm 3$  έτη και ΔΜΣ  $24 \pm 1.8$  Kg/m<sup>2</sup> (Ομάδα Β). Οι δύο ομάδες δε διέφεραν ως προς την ηλικία, το φύλο, το ΔΜΣ. Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων παρουσιάζονται στον πίνακα 1. Στη βασική εξέταση τα άτομα ταξινομήθηκαν στις 2 κατηγορίες σύμφωνα με τα κριτήρια της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Υπέρτασης και της Ευρωπαϊκής Καρδιολογικής Εταιρείας (ESH/ESC 2003)<sup>3-4</sup>.

Οι συμμετέχοντες δεν ήταν καπνιστές, δεν ελάμβαναν φαρμακευτική αγωγή και δεν παρουσίαζαν διαταραχές της θυροειδικής λειτουργίας. Η κατανάλωση οινοπνεύματος, υπολογισμένη σε γραμμάρια ανά ημέρα και η φυσική δραστηριότητα, καθορίστηκε από ένα λεπτομερές ερωτηματολόγιο<sup>5</sup>. Πριν τη μελέτη, δόθηκε γραπτή συγκατάθεση από τους συμμετέχοντες, οι οποίοι υποβλήθηκαν σε συνήθη κλινική εξέταση. Οι τιμές της ΣΑΠ και της ΔΑΠ καθορίστηκαν βάσει του 1ου και 5ου ήχου Korotkoff, αντίστοιχα. Οι μετρήσεις

έγιναν με υδραργυρικό μανόμετρο στο δεξιό βραχίονα, σε ύπτια θέση, αφού προηγήθηκε ανάπαυση του εξεταζόμενου επί 15 λεπτά. Τα τελικά αποτελέσματα ήταν ο μέσος όρος των μετρήσεων 3 τουλάχιστον διαδοχικών επισκέψεων των εξεταζόμενων. Οι μετρήσεις έγιναν από τον ίδιο εξεταστή, ο οποίος δεν γνώριζε το οικογενειακό ιστορικό των εξεταζομένων. Στο πληθυσμό της μελέτης έγινε προσδιορισμός των επιπέδων αντιενδοθηλιακών αντισωμάτων (IgG και IgM) με την ανοσολογική μέθοδο (ELISA). Οι αιμοληψίες έγιναν μεταξύ 8-9 π.μ., μετά από 12ωρη νηστεία. Οι υπεύθυνοι των αναλύσεων δεν γνώριζαν την προέλευση των δειγμάτων αίματος. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων εκφράστηκαν σαν συγκεντρώσεις των αντισωμάτων IgG και IgM σε ng/ml στα δείγματα αίματος.

## Στατιστική ανάλυση

Οι τιμές εκφράστηκαν σαν μέση τιμή  $\pm$  σταθερή απόκλιση (SD). Οι διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων ως προς τη συχνότητα της ύπαρξης των ΑΕΑ εκτιμήθηκαν με τη χρήση του  $\chi^2$ . Οι διαφορές αναφορικά με τις τιμές των αντισωμάτων εκτιμήθηκαν με τη χρήση των Student t-test. Τιμές  $p < 0,05$  θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικές. Όλες οι αναλύσεις έγιναν μέσω του στατιστικού προγράμματος SPSS.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Δεν διαπιστώθηκε σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο ομάδες, αναφορικά με την ηλικία, το φύλο και το ΔΜΣ (Πίν. 1). Σε 25/90 άτομα της ομάδας Α (28%) βρέθηκαν αυξημένα επίπεδα IgG, έναντι 3/80 της ομάδας Β (3.75%,  $p < 0.001$ ). Τα επίπεδα IgM ήταν αυξημένα σε 18/90 άτομα της ομάδας Α (20%), έναντι 2/80 της ομάδας Β (2.5%,  $p < 0.001$ ). Η μέση τιμή των IgM αντισωμάτων ήταν  $0,085 \pm 0,03$  στην ομάδα Α έναντι  $0,053 \pm 0,03$  της ομάδας Β ( $p < 0.001$ ) ενώ η μέση τιμή των IgG αντισωμάτων ήταν  $0,1035 \pm 0,06$  για την ομάδα Α έναντι  $0,096 \pm 0,04$  της ομάδας Β ( $p < 0.001$ ) (Πίν. 2).

**Πίνακας 1.** Δημογραφικά στοιχεία του πληθυσμού της μελέτης

	Ομάδα Α N=90	Ομάδα Β N=80	p
Ηλικία (έτη)	$48 \pm 2,6$	$46 \pm 3$	NS
ΔΜΣ (kg/m <sup>2</sup> )	$23 \pm 1,5$	$24 \pm 1,8$	NS
Φύλο (Α/Γ)	43 / 47	23 / 17	NS

**Πίνακας 2.** Συγκριτικά αποτελέσματα μεταξύ των δύο ομάδων

	Ομάδα Α N=90	Ομάδα Β N=80	p
ΣΑΠ (mmHg)	133±2	126±3	<0.001
ΔΑΠ(mmHg)	87±2	82±2	<0.001
Ig M (ng/ml)	0,085±0,03	0,053±0,03	<0.001
Ig G (ng/ml)	0,1035±0,06	0,096±0,04	<0.001

Να σημειωθεί ότι δεν υπήρχαν διαφορές μεταξύ των 2 ομάδων ως προς τη σωματική δραστηριότητα και την κατανάλωση οινοπνεύματος.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα ευρήματα της μελέτης μας υποδεικνύουν ότι υγιείς νορμοτασικοί με ΥΦΑΠ έχουν σημαντικά αυξημένα επίπεδα αντιενδοθηλιακών αντισωμάτων IgG και IgM, συγκρινόμενοι με υγιείς νορμοτασικούς με ΦΑΠ, ταυτόσημους ως προς την ηλικία, το φύλο, το ΔΜΣ την κατανάλωση αλκοόλ και τη σωματική δραστηριότητα. Σύμφωνα με βιβλιογραφικά δεδομένα, μελέτες σε ανθρώπους, έδειξαν σημαντική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων των ΑΕΑ και των καρδιαγγειακών παθήσεων. Συγκεκριμένα, όπως φαίνεται από τη μελέτη των Farsi και συν., τα ΑΕΑ συμμετέχουν στην εμφάνιση επαναστένωσης μετά επιτυχή αγγειοπλαστική των στεφανιαίων, μέσω του μηχανισμού της υπερπλασίας του έσω χιτώνα των υπεύθυνων αγγείων, εκλύοντας έτσι στο σύνδρομο της ασταθούς στηθάγχης<sup>6</sup>. Επιπλέον από μελέτες γνωρίζουμε ότι η παρουσία των ΑΕΑ σχετίζεται με τη σοβαρότητα της πρωτεϊνουρίας και την κυτταροτοξικότητα έναντι των ενδοθηλιακών κυττάρων, τα οποία οδηγούνται στην καταστροφή τους επί περιπτώσεων προεκλαμψίας<sup>7</sup>. Αυξημένα επίπεδα ΑΕΑ έχουν παρατηρηθεί σε νεαρούς ασθενείς με κλινική και αγγειογραφική διάγνωση πρώιμης αθηροσκληρωτικής περιφερικής αγγειακής νόσου. Η χαμηλή συχνότητα της υπερλιπιδαιμίας / δυσλιπιδαιμίας στους ασθενείς με αυξημένο τίτλο ΑΕΑ έναντι των ασθενών χωρίς την παρουσία αντισωμάτων συνηγορεί υπέρ του ρόλου τους στη δημιουργία αγγειακής βλάβης<sup>8</sup>.

Η λοιμώδης ενδοκαρδίτιδα χαρακτηρίζεται από την παρουσία ΑΕΑ που δρουν έναντι κυτταροπλασματικών δομών κατά την πορεία της νόσου. Η δημιουργία τους ίσως είναι αποτέλεσμα της βλάβης των ενδοκαρδιακών κυττάρων και δεν φαίνεται να παίζουν ρόλο στην παθογένεση της λοιμώ-

δους ενδοκαρδίτιδας<sup>9</sup>.

Τα ΑΕΑ συνιστούν μια ετερογενή ομάδα αντισωμάτων έναντι μεγάλης ποικιλίας αντιγονικών παραγόντων των ενδοθηλιακών κυττάρων (ΕΚ). Τα αντιγόνα των ΕΚ μπορούν να εκφραστούν και να τροποποιηθούν από κυτοκίνες ή μπορεί να είναι μόρια που προσκολλώνται στα αντιγόνα του ενδοθηλιακού κυττάρου. Παρά την εμφάνιση καθημερινά νέων τεχνικών ανίχνευσης, πολλά από τα αντιγόνα έναντι των ΑΕΑ δεν έχουν ανιχνευθεί επαρκώς.

Η παρουσία ΑΕΑ ανιχνεύεται σε μεγάλη ποικιλία φλεγμονωδών καταστάσεων. Αν και ίσως είναι περιορισμένης αξίας για τη διάγνωση της νόσου, η ανακάλυψή τους μπορεί να είναι επωφελής στην παρακολούθηση της εξέλιξης της νόσου. Σε διάφορα νοσήματα όπως π.χ. ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος και η συστηματική αγγειίτιδα, υψηλός τίτλος ΑΕΑ ανευρίσκεται στη φάση της ενεργού νόσου, ενώ χαμηλός τίτλος ΑΕΑ ή εξαφάνισή τους, παρατηρείται σε περιόδους ύφεσης της νόσου<sup>10</sup>.

Σε πειραματικά ζωικά μοντέλα (ποντίκια), αντισώματα έναντι των αντιγονικών στοιχείων των ΕΚ είχαν την ικανότητα δημιουργίας αγγειακής βλάβης. Η συσχέτιση μεταξύ των αλλαγών του τίτλου των ΑΕΑ και της εξέλιξης της νόσου, υποδηλώνει σημαντικό ρόλο των ΑΕΑ σε διεργασίες όπου συμβαίνει βλάβη του αγγειακού τοιχώματος, αν και δεν μπορεί να αποκλεισθεί η πιθανότητα η παρουσία των ΑΕΑ να είναι επιφανόμενο της αγγειακής βλάβης.

Διάφορες πρόσφατες in vitro μελέτες ενισχύουν το ρόλο του ΑΕΑ στην παθοφυσιολογία των φλεγμονωδών καταστάσεων. Ο ρόλος τους ίσως να συνίσταται στην ενεργοποίηση των ΕΚ, η οποία οδηγεί σε απορρύθμιση της έκφρασης των ενδοθηλιακών μορίων προσκόλλησης και/ή έκκριση κυτοκινών και χημειοτακτικών ουσιών. Ένας άλλος εναλλακτικός τρόπος δράσης, μέσω του οποίου τα ΑΕΑ πυροδοτούν την έναρξη των παθογενετικών μηχανισμών των φλεγμονωδών παθήσεων, είναι η κυτταροτοξικότητα που εξαρτάται από το συμπλήρωμα (complement dependent cytotoxicity – CDC) και/ή η κυτταροτοξικότητα που εξαρτάται από το αντίσωμα (antibody-dependent cellular cytotoxicity – ADCC)<sup>10</sup>.

Ένας περιορισμός της μελέτης μας είναι ο μη προσδιορισμός των ιστικών επιπέδων των ΑΕΑ του υπό μελέτη πληθυσμού, ο οποίος θα μπορούσε ιδανικά να επιβεβαιώσει μια συσχέτιση μεταξύ της αρτηριακής ή της καρδιακής ιστικής δραστηριότη-

τας και των επιπέδων των ΑΕΑ της κυκλοφορίας. Ίσως απαιτηθούν πειραματικές μελέτες σε μοντέλα υπερτασικών ζώων για να διερευνηθούν πληρέστερα οι δεσμοί μεταξύ δομής, λειτουργίας και τοπικής/συστηματικής σύνθεσης των ΑΕΑ. Ο περιορισμός του σχετικά μικρού μεγέθους του δείγματος είναι γνωστός, αλλά εν πολλοίς ο αριθμός των παρατηρήσεων είναι παρόμοιος με τον αντίστοιχο προγενέστερων μελετών<sup>11</sup>. Όπως προκύπτει από τη βιβλιογραφία, είναι η πρώτη φορά που αναγνωρίζονται υψηλοί τίτλοι ΑΕΑ σε ασθενείς με ΥΦΑΠ.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα ευρήματά μας οδηγούν στο συμπέρασμα, ότι υγιείς νορμοτασικοί με ΥΦΑΠ έχουν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα ΑΕΑ (IgG και IgM) συγκρινόμενοι με υγιείς νορμοτασικούς με ΦΑΠ. Μελλοντικές μελέτες είναι αναγκαίες για να επιβεβαιώσουν τα ευρήματά μας, τα οποία ενισχύουν ξεκάθαρα την πρακτική της εξέτασης των υγιών νορμοτασικών με ΥΦΑΠ σε μια προσπάθεια διαστρωμάτωσης τους ανάλογα με τον καρδιαγγειακό κίνδυνο που διατρέχουν με στόχο την πρόληψη μελλοντικών καρδιακών επεισοδίων.

## SUMMARY

**Papadopoulos DP, Makris T, Papazahou O, Daskalaki M, Krespi P, Vihos S, Hatzizaharias A, Votteas V. Levels of antiendothelial-cell antibodies in healthy normotensives (with high normal blood pressure). *Arterial Hypertension* 2007; 16: 66-69.**

**Introduction:** High normal blood pressure (HNBP) seems to be related to increased cardiovascular risk in healthy normotensives subjects. According to international literature, elevated levels of antibodies against to endothelial cell surface antigens (antiendothelial cell antibodies – AECA) play an important role at the early stages of atherosclerosis process and of borderline hypertension. Aim of this study was to compare the antiendothelial cell antibodies levels of healthy normotensives with high normal blood pressure. (HNBP) to those of healthy normotensives with normal blood pressure (NBP), matched for age, sex and BMI. **Methods:** Ninety healthy normotensives with HNBP (43M, 47F) mean age  $48 \pm 2,6$  yrs and BMI  $23,6 \pm 1,5$  Kg/m<sup>2</sup> (Group A) and 80 healthy normotensives with NBP (41M, 39F) mean age  $46 \pm 3$  yrs and BMI  $24 \pm 1,8$  Kg/m<sup>2</sup> (Group B) were studied. Both group subjects were matched for sex, age and

BMI. AECA levels were determined in each subject using an enzyme linked immunosorbent assay (E-LISA). Antiendothelial cell antibodies levels were expressed as mean value  $\pm$  SD. **Results:** In 25/90 subjects of group A (28%) elevated IgG antiendothelial cell antibodies levels vs. 3/80 of group B (3.75%,  $p < 0,001$ ). IgM antiendothelial cell antibodies levels were elevated in 18 of 90 in group A (20%) vs. 2/80 of group B (1.5%  $p < 0,001$ ). **Conclusions:** Our findings suggest that healthy normotensives with HNBP have significantly higher antiendothelial cell antibodies levels of both classes (IgG, IgM) compared to healthy normotensives with NBP. This may have prognostic significance for the future development of essential hypertension in this group of healthy subjects.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Vasan RS, Larson MG, Leip EP, et al. Impact of high-normal blood pressure on the risk of cardiovascular disease. *N Engl J Med* 2001; 345(18):1291-7.
2. Kluz J, Adamiec R. The role of anti-endothelial cell antibodies in the pathogenesis of atherosclerosis and diabetic angiopathy *Przegl Lek* 2003; 60(11): 751-4.
3. European Society of Hypertension-European Society of Cardiology Guidelines Committee 2003 European Society of Hypertension-European Society of Cardiology guidelines for the management of arterial hypertension. *J Hypertens* 2003; 21(6): 1011-53.
4. Ramachandran S, Varan, Martin Larson, et al. Impact of high – normal blood pressure on the risk of cardiovascular disease. *N. Engl J Med* 2001; 345: 1291-7.
5. Seidell JC, Cigolini M, Deslypere JP, Charzewska J, Ellsinger BM, Cruz A. Body fat distribution in relation to physical activity and smoking habits in 38 year old European men. *Am J Epidemiol* 1991; 133: 257-65.
6. Farsi A, Domeneghetti MP, Brunelli T, et al. Activation of the immune system and coronary artery disease: the role of anti-endothelial cell antibodies. *Atherosclerosis*. 2001; 154(2): 429-36.
7. Geshi Y, Kuno S, Kase N, Mori H. Anti-endothelial cell antibody in preeclampsia: clinical findings and serum cytotoxicity to endothelial cell. *Yamamoto. Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi* 1998; 21(5): 191-7.
8. Nityanand S, Bergmark C, de Faire U, Swedenborg J, Holm G, Lefvert AK. Antibodies against endothelial cells and cardiolipin in young patients with peripheral atherosclerotic disease.. *J Intern Med* 1995; 238(5): 437-43.
9. Portig I, Beck V, Pankuweit S, Maisch B. Antiendothelial antibodies in sera of patients with infective endocarditis. *Basic Res Cardiol* 2001; 96(1): 75-81.
10. Belizna C, Tervaert JW. Specificity, pathogenecity and clinical value of antiendothelial cell antibodies. *Semin Arthritis Rheum* 1997; 27(2): 98-109.
11. Van Haelst PL, Kobold AC, van Doormaal JJ, Tervaert JW. AECA and ANCA in patients with premature atherosclerosis. *Int Rev Immunol* 2002; 21(1): 19-26.