

L'IPOSSIA AUMENTA LO STRESS OSSIDATIVO NEI NEUTROFILI DI PAZIENTI CON DEFICIT DI ALPHA-1 ANTITRIPSINA ZZ

a cura della Redazione

Commento a: Magallón M, Castillo-Corullón S, Bañuls L, Pellicer D, Romero T, Martínez-Ferraro C, Navarro-García MM, Herrejón A, González C, Dasí F. Hypoxia Enhances Oxidative Stress in Neutrophils from ZZ Alpha-1 Antitrypsin Deficiency Patients. *Antioxidants (Basel)*. 2023 Apr 3;12(4):872. doi: 10.3390/antiox12040872. PMID: 37107247.

INTRODUZIONE

La carenza di alfa-1 antitripsina (DAAT) è una condizione genetica rara caratterizzata da bassi livelli di alfa-1 antitripsina (AAT), una proteina cruciale per proteggere i polmoni da danni causati da enzimi proteolitici come l'elastasi neutrofila (NE) o la proteinasi-3. Questa condizione può condurre allo sviluppo di broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO). La proteina AAT è codificata dal gene SERPINA1, e la sua carenza nei pazienti con DAAT porta a livelli circolanti ridotti, compromettendo la capacità di inibire la NE e contribuendo alla patogenesi della BPCO.

Nonostante l'importante ruolo dello squilibrio tra proteasi e antiproteasi (NE rispetto a AAT) nella BPCO, diversi studi indicano che questo squilibrio da solo non è sufficiente a spiegare la variabilità clinica della malattia. Si è ipotizzato che lo stress ossidativo possa essere uno dei fattori modificanti che influenzano il decorso della malattia (1). Lo stress ossidativo si verifica quando ciò che favorisce la produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e delle specie reattive dell'azoto (RNS) supera i meccani-

smi antiossidanti del corpo, portando a danni cellulari irreversibili e distruggendo i tessuti (2).

La condizione di DAAT è associata a un ambiente infiammatorio in cui i neutrofili giocano un ruolo centrale (3,4). Tuttavia, un'attivazione eccessiva dei neutrofili può portare a un aumento del rilascio di proteasi, citochine pro-infiammatorie e alla generazione di stress ossidativo, contribuendo a danni tissutali. Lo studio di Magallón e colleghi si propone quindi di esaminare come l'ipossia influenzi il profilo di stress ossidativo nei neutrofili dei pazienti con DAAT.

RISULTATI

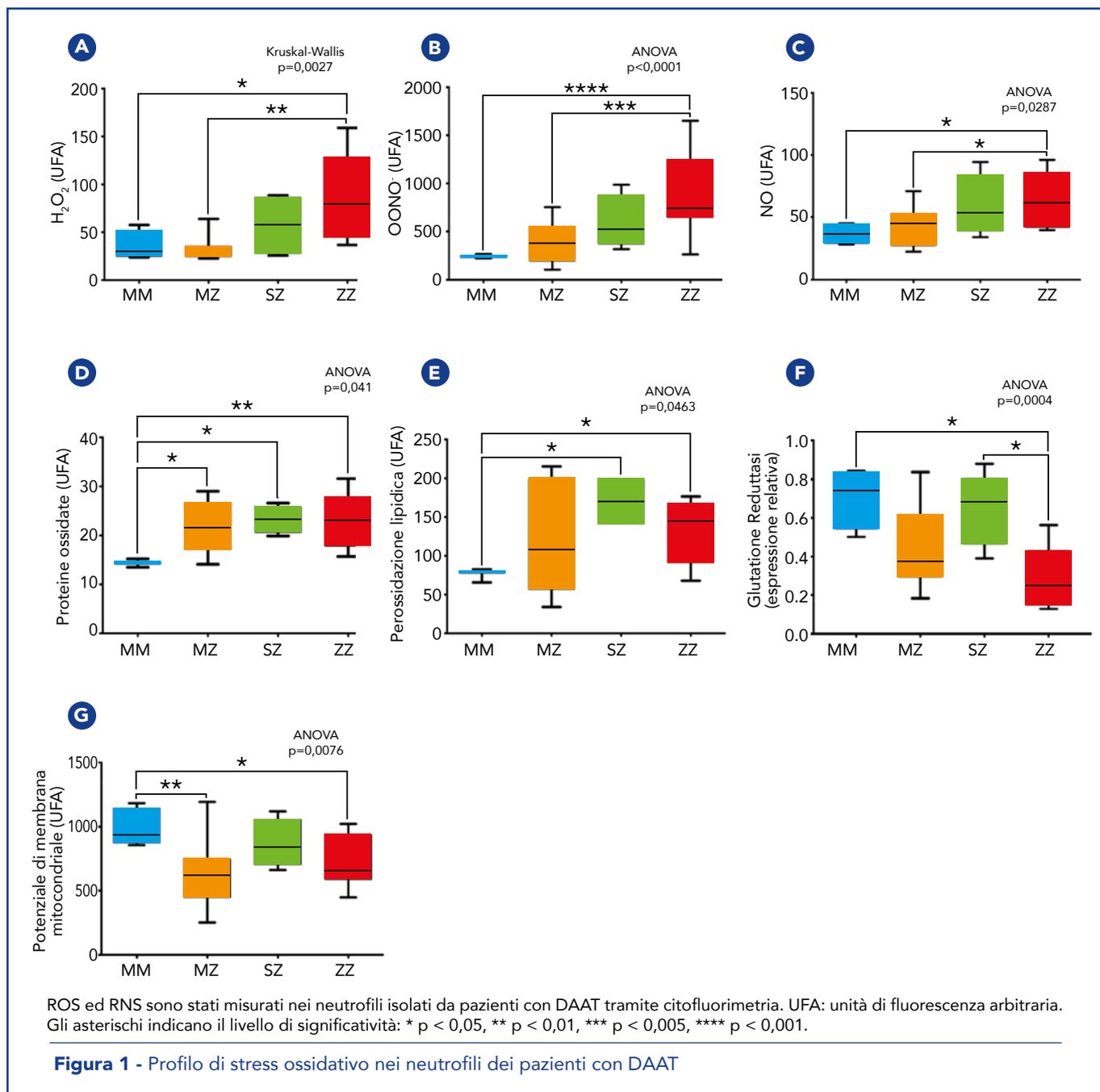
Nello studio sono stati inclusi 54 piccoli pazienti con DAAT (31 MZ, 51%; 8 SZ, 13%; e 15 ZZ, 25%) e 7 volontari sani (MM, 11%) per confronto. Non sono emerse differenze significative tra i gruppi per età, sesso, indice di massa corporea (BMI) e test di funzionalità polmonare o indicatori di danni al fegato. Questi risultati indicano che tutti gli individui coinvolti nello studio erano clinicamente sani secondo i loro parametri fisici e i test di funzionalità polmonare ed epatici (Tabella 1).

Variabile	MM (N = 7)	MZ (N = 31)	SZ (N = 8)	ZZ (N = 15)	p-value
Età (anni)	11,00 ± 5,41	7,61 ± 3,89	10,13 ± 1,25	6,69 ± 2,87	0,06
Maschi/Femmine (%)	43 / 57	52 / 48	75 / 25	54 / 46	0,69
AAT (mg/dL)	148,50 ± 18,56	85,27 ± 25,08	57,38 ± 8,89	26,22 ± 8,03	< 0,0001
BMI (Kg/m ²)	16,00 ± 2,42	17,47 ± 2,48	17,24 ± 1,41	17,50 ± 3,43	0,99
FEV ₁ %	-	102,50 ± 14,01	107,90 ± 5,67	102,60 ± 12,47	0,57
FVC %	-	98,69 ± 9,18	100,10 ± 7,60	98,44 ± 16,53	0,59
FEV ₁ /FVC %	-	90,86 ± 6,64	94,71 ± 6,69	91,79 ± 5,22	0,22
AST (U/L)	20,00 ± 4,61	29,79 ± 6,57	35,00 ± 1,00	35,20 ± 6,00	0,14
ALT (U/L)	23,17 ± 7,65	22,76 ± 9,25	22,14 ± 4,38	32,33 ± 11,02	0,11
GGT (U/L)	18,46 ± 2,75	15,80 ± 2,69	17,38 ± 3,42	19,00 ± 1,00	0,14
Vitamin A (µg/dL)	40,10 ± 12,57	34,83 ± 11,11	32,50 ± 7,09	39,80 ± 13,94	0,69
Vitamin D (ng/mL)	36,50 ± 10,88	27,43 ± 9,81	35,50 ± 7,27	32,40 ± 10,46	0,18
Vitamin E (mg/L)	9,25 ± 3,79	10,87 ± 9,73	10,40 ± 1,14	11,72 ± 2,05	0,14

I dati sono presentati come media ± deviazione standard. Abbreviazioni: AAT, alfa-1 antitripsina; BMI, indice di massa corporea; FEV₁, volume espiratorio forzato in 1 secondo; FVC, capacità vitale forzata; AST, aspartato aminotransferasi; ALT, alanina aminotransferasi; GGT, gamma-glutamyl-transferasi; I valori di normalità sono i seguenti: AAT: 90–100 mg/dL, FEV₁: ≥ 80% predetto, FVC: ≥ 80% predetto, FEV₁/FVC: ≥ 80% predetto, AST: 1–37 U/L, ALT: 1–37 U/L, GGT: 1–55 U/L, vitamina A: 20–60 µg/dL, vitamina D: 20–50 ng/mL, vitamina E: 5,5–17 mg/L. I valori di p < 0,05 sono stati considerati statisticamente significativi.

Tabella 1 - Caratteristiche demografiche e cliniche del gruppo di studio





I risultati evidenziano un aumento significativo dei livelli di perossido di idrogeno (H_2O_2) (Figura 1A) e delle specie reattive dell'ossigeno e dell'azoto (ONOO $^-$ e NO) (Figura 1B-C) nei neutrofilari dei pazienti con DAAT. In concomitanza, si riscontra una riduzione dell'espressione dell'enzima antiossidante catalasi, responsabile dell'eliminazione del perossido di idrogeno (H_2O_2), potenzialmente spiegando l'accumulo osservato nei neutrofilari dei pazienti con DAAT.

L'incremento significativo nei livelli di perossinitrito (ONOO $^-$) e ossido nitrico (NO) è particolarmente rilevante nei pazienti con DAAT che presentano il

genotipo ZZ. L'accumulo di H_2O_2 e ONOO $^-$ è associato ad un aumento del danno ossidativo alle biomolecole, evidenziato dall'aumento delle proteine ossidate (Figura 1D) e dei livelli di perossidazione lipidica (Figura 1E) nei neutrofilari dei bambini con DAAT, soprattutto quelli con genotipo ZZ.

La riduzione dell'espressione di glutazione reduttasi (GR), un enzima coinvolto nella difesa antiossidante cellulare, rappresenta un'altra caratteristica distintiva nei neutrofilari dei bambini con genotipo ZZ (Figura 1F). Tale riduzione potrebbe influenzare negativamente la capacità delle cellule di mantene-



re l'omeostasi redox. Inoltre, il basso potenziale di membrana mitocondriale nei pazienti con genotipo ZZ (Figura 1G) suggerisce un coinvolgimento dei mitocondri nell'eccessiva produzione di specie reattive dell'ossigeno, accentuando ulteriormente lo stress ossidativo.

DISCUSSIONE

I neutrofili, parte essenziale della risposta immunitaria innata, svolgono un ruolo chiave nella difesa contro patogeni. Tuttavia, l'iperattivazione di queste cellule può provocare danni ai tessuti circostanti attraverso il rilascio di enzimi proteolitici e produzione di ROS/RNS (5).

Nel contesto della DAAT, gli autori ipotizzano che l'ipossia locale, correlata all'infiammazione, possa aumentare la generazione di ROS/RNS nei neutrofili. I risultati dello studio supportano questa ipotesi, evidenziando un aumento dello stress ossidativo nei

neutrofili dei pazienti con DAAT, soprattutto in coloro che presentano il genotipo ZZ. Gli stessi autori hanno precedentemente dimostrato che in pazienti con DAAT, la terapia sostitutiva mostra un'iniziale riduzione dei livelli di H₂O₂ al secondo giorno dall'iniezione, seguita da un aumento degli stessi dopo 7 giorni (6). Ciò suggerisce un possibile coinvolgimento dello stress ossidativo nel declino della funzione polmonare e/o epatica nella DAAT, con la prospettiva che la terapia sostitutiva possa invertire questa situazione. Nonostante qualche limitazione, come le dimensioni ridotte del campione, i risultati del presente studio, in linea con quanto già presente in letteratura, suggeriscono che lo stress ossidativo potrebbe giocare un ruolo cruciale nella fisiologia dei neutrofili nei pazienti con DAAT, specialmente in condizioni di ipossia. Gli autori sottolineano perciò la possibilità di una nuova prospettiva nell'utilizzo di terapie antiossidanti nella gestione della malattia.

Bibliografia

1. Torres-Durán M, Lopez-Campos JL, Barrecheguren M, Miravittles M, Martínez-Delgado B, Castillo S, et al. Alpha-1 antitrypsin deficiency: outstanding questions and future directions. *Orphanet J Rare Dis*. 2018 Jul 11;13(1):114.
2. Loreto Palacio P, Godoy JR, Aktas O, Hanschmann EM. Changing Perspectives from Oxidative Stress to Redox Signaling-Extracellular Redox Control in Translational Medicine. *Antioxidants (Basel)*. 2022 Jun 16;11(6).
3. McCarthy C, Reeves EP, McElvaney NG. The Role of Neutrophils in Alpha-1 Antitrypsin Deficiency. *Ann Am Thorac Soc*. 2016 Aug;13 Suppl 4:S297-304.
4. Belchamber KBR, Walker EM, Stockley RA, Sapey E. Monocytes and Macrophages in Alpha-1 Antitrypsin Deficiency. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2020;15:3183-92.
5. Williams AE, Chambers RC. Neutrophils and tissue damage: is hypoxia the key to excessive degranulation? *Thorax*. 2016 Nov;71(11):977-8.
6. Dasi F, Pastor S, Reula A, Castillo S, Escribano A. Augmentation Therapy Increases Hydrogen Peroxide Accumulation in Peripheral Blood Mononuclear Cells of AATD Patients. In *Proceedings of the American Thoracic Society Annual Meeting, Washington, DC, USA, 19 May-24 May 2017; Volume 195, p. A6337.*

