



## MECHANIZMY CHOROBY

Robert S. Schwartz, MD, Redaktor

# Niedotlenienie a stan zapalny

HOLGER K. ELTZSCHIG, MD, PHD, PETER CARMELIET, MD, PHD

Department of Anesthesiology, University of Colorado Denver, Aurora (H.K.E.); Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, Tübingen University Hospital, Tübingen, Niemcy (H.K.E.); Vesalius Research Center VIB i Vesalius Research Center, K.U. Leuven – obie instytucje w Leuven, Belgia (P.C.).

### Adres do korespondencji:

Dr Holger K. Eltzschig,  
Department of Anesthesiology,  
University of Colorado Denver,  
12700 E. 19th Ave., Mailstop  
B112, Research Complex 2,  
Rm. 7124, Aurora, CO 80045  
e-mail: holger.eltzschig@  
ucdenver.edu.

N Engl J Med 2011; 364:656-65

Kardiologia po Dyplomie  
2011; 10 (7): 12-24

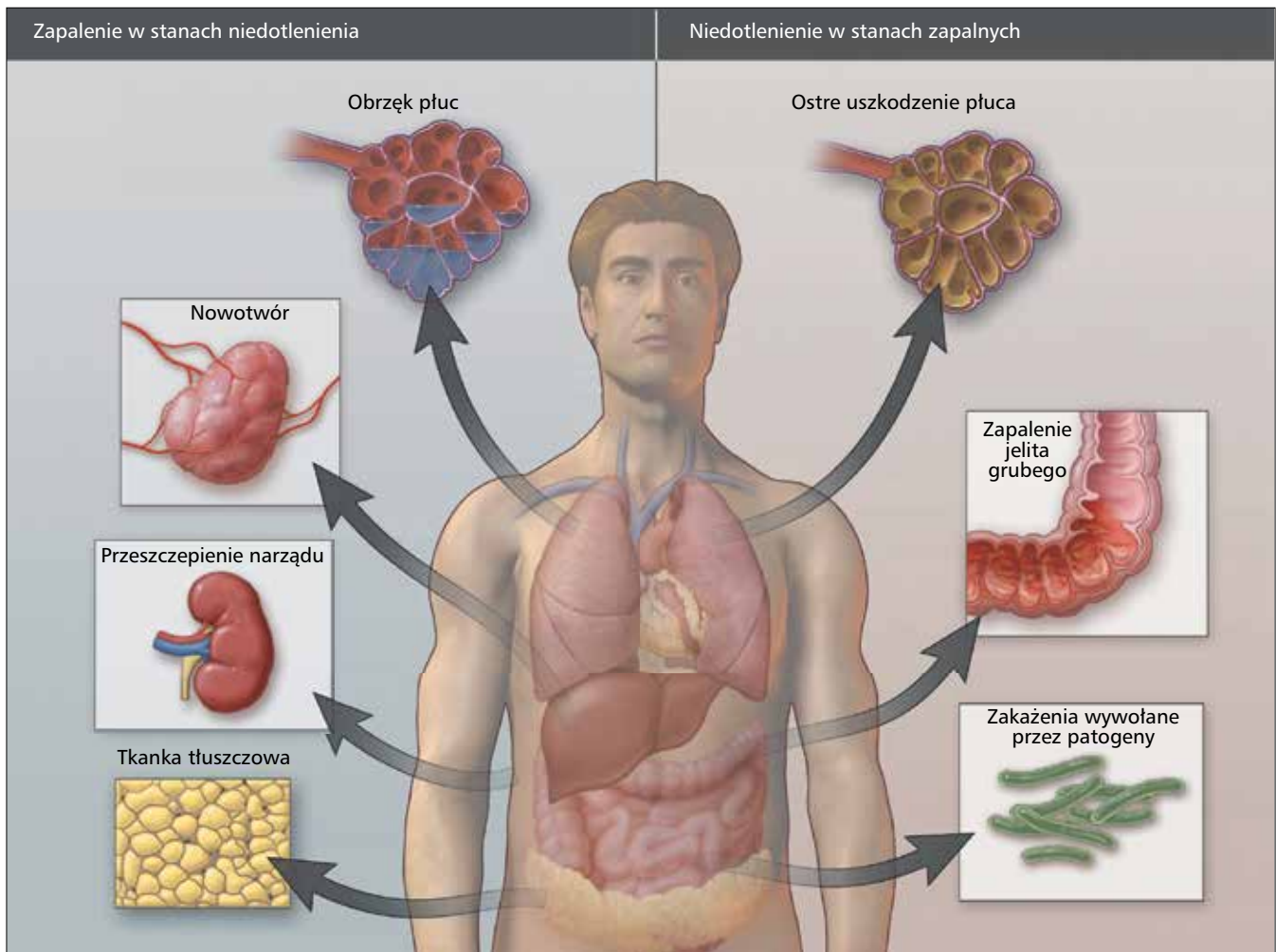
S saki dysponują mechanizmami detekcji stężenia tlenu, umożliwiającymi szybką adaptację do warunków niedotlenienia dzięki zwiększaniu częstości oddechów i przepływu krwi oraz uruchamianie odpowiedzi związanych z przeżyciem. Jeśli niedotlenienie się utrzymuje, uruchamiane są dodatkowe mechanizmy prowadzące do przywrócenia właściwego natlenienia lub umożliwiające adaptację organizmu do niedotlenienia [1]. Mechanizmy działające w tym drugim przypadku wykorzystują hydrolazy reszt proliny (prolyl hydrolases, PHD), które katalizują hydroksylację prolin w podjednostce alfa czynnika transkrypcji indukowanego niedotlenieniem (hypoxia-inducible transcription factor, HIF). Czynnikiem ten jest heterodimerem zbudowanym z dwóch podjednostek: HIF-1 $\alpha$  lub HIF-2 $\alpha$  oraz HIF-1 $\beta$  (nazywanej jądrowym translokatorem receptora węglowodorów arylowych, aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator [ARNT]). HIF-1 $\alpha$  występuje powszechnie, HIF-2 $\alpha$  tylko w określonych tkankach [1].

Niniejszy przegląd przedstawia mechanizmy, za pośrednictwem których układ PHD-HIF wpływa na procesy zapalne, omawia regulację odpowiedzi immunologicznej za pośrednictwem szlaków przekazywania sygnałów indukowanych niedotlenieniem, opisuje molekularne aspekty zależności między niedotlenieniem a stanem zapalnym oraz ilustruje związek między niedotlenieniem a stanem zapalnym w chorobach zapalnych jelita grubego, niektórych nowotworach i zakażeniach.

## Zapalenie indukowane niedotlenieniem

Teoria mówiąca, że niedotlenienie może indukować stan zapalny, zdobyła ogólne uznanie dzięki badaniom poświęconym indukowanemu niedotlenieniem szlakowi przekazywania sygnałów. Na przykład u osób z chorobą górską wzrost stężenia krążących cytokin prozapalnych oraz tzw. wyciek płynów (wyciek naczyniowy) prowadzą do obrzęku płuc lub mózgu [1-3]. Wzrost stężenia markerów stanu zapalnego: interleukiny 6, receptora dla interleukiny 6 oraz białka C-reaktywnego w surowicy obserwowano u zdrowych ochotników, którzy spędzili trzy dni na wysokości powyżej 3400 m n.p.m. [4]. Na wysokości 8400 m n.p.m. zdrowi himalajscy schodzący z Mount Everest cierpieli na ciężką hipoksemię (ciśnienie parcjalne tlenu we krwi tętniczej [PaO<sub>2</sub>], 25 mm Hg). Obserwowano u nich różnice między stężeniem tlenu w pęcherzykach płucnych a stężeniem tętniczym, co odpowiada podklinicznemu wysokościowemu obrzękowi płuc [3]. Wyciek naczyniowy, gromadzenie komórek zapalnych w narządach i wzrost stężenia cytokin w surowicy stwierdzono u myszy po krótkiej ekspozycji na małe stężenia tlenu [5-9].

Indukcja zapalenia w odpowiedzi na niedotlenienie ma znaczenie kliniczne. Niedokrwienie przeszczepionych narządów zwiększa ryzyko zapalenia, niewydolności oraz prawdopodobieństwo odrzucenia przeszczepu [10]. U chorych, którym przeszczepiono nerki, wykazano, że ekspresja w komórkach nerek receptora toll-podobnego (Toll-like receptor, TLR) typu 4 – zewnątrzkomórkowego receptora dla lipopolisacharydów bakteryjnych – koreluje ze stopniem uszkodzenia będącego wynikiem niedokrwienia. W badaniu tym przeszczepienie nerki od dawcy z allelem TLR4, którego produkt białkowy pozostawał nieczynny, w porównaniu z nerkami od dawców z funkcjonalnym allelem genu *TLR4*, wiązało się z wcześniej-



**RYCINA 1. Związki między niedotlenieniem a stanem zapalnym.**

Stany kliniczne charakteryzujące się głównie niedotlenieniem tkanek prowadzącym do zmian zapalnych (po lewej) oraz choroby o podłożu zapalnym prowadzące do niedotlenienia tkanek (po prawej).

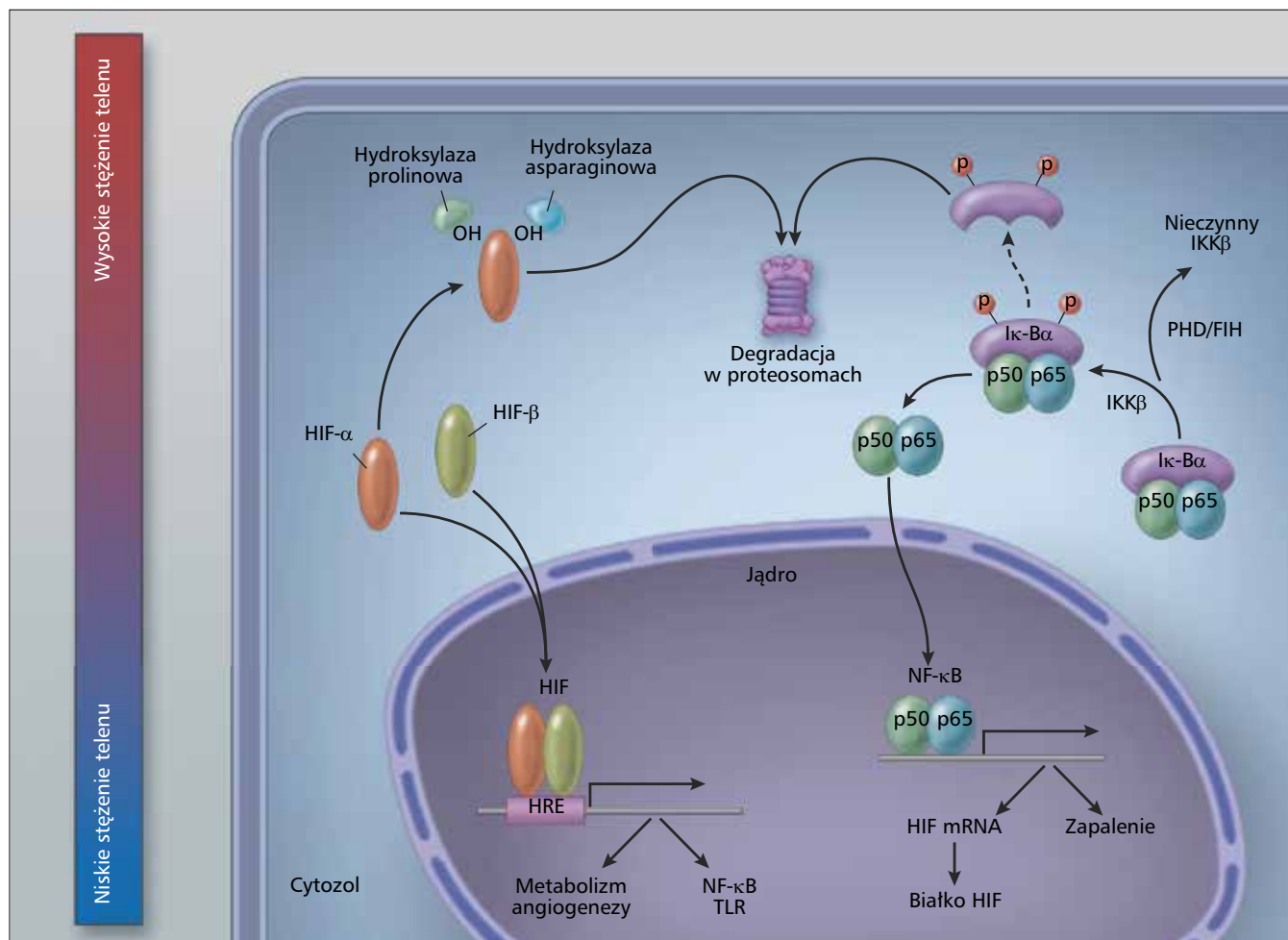
szym podejmowaniem pracy przez przeszczepiony narząd [10]. Ponadto wzrost stężeń cytokin w płucach oraz większa ekspresja TLR korelowały z większym uszkodzeniem niedokrwiennym przeszczepionych płuc oraz z utratą funkcji przeszczepu [11,12]. W otyłości zaburzenie równowagi między zapotrzebowaniem na tlen a ilością tlenu dostarczanego do powiększonych adipocytów prowadzi do niedotlenienia tkanek oraz wzrostu stężenia adipokin zapalnych w tkance tłuszczowej. Naciek makrofagów i przewlekłe zapalenie układowe o niewielkim natężeniu sprzyjają oporności na insulinę [13]. Przedstawione obserwacje i badania kliniczne wskazują, że niedotlenienie sprzyja natomiast stanowi zapalnemu (ryc. 1).

## Stan zapalny a niedotlenienie tkanki

Podobnie jak niedotlenienie może indukować zapalenie, tak tkanki uszkodzone w wyniku stanu zapalnego często są znacznie niedotlenione. W wyniku gradientu stężeń

między beztlenowym środowiskiem światła jelita a metabolicznie aktywną błazką właściwą błony śluzowej komórki nabłonka jelita cienkiego są zwykle niedotlenione (hipoksyjne) [14]. W chorobie zapalnej jelit nie tylko cała błona śluzowa jest jeszcze bardziej niedotleniona [1], wykazano też, że w pobranych w trakcie zabiegów chirurgicznych wycinkach z jelita objętego stanem zapalnym stężenia HIF-1 $\alpha$  i HIF-2 $\alpha$  są zwiększone [15].

Czynniki przyczyniające się do niedotlenienia tkanek obejmują wzrost metabolicznych wymagań komórek oraz zmniejszenie dostępności substratów metabolicznych wywołane zakrzepem, urazem, uciskiem (nadcisnienie śródmiąższowe) czy niedodmą (zamykaniem dróg oddechowych). Namnażanie patogenów wewnątrzkomórkowych prowadzić może ponadto do uszczuplenia zasobów tlenu w komórkach zakażonych [16]. W zmienionej zapalnie tkance niedotlenienie nie jest wyłącznie zjawiskiem towarzyszącym, ale może wpływać na środowisko tkanki, szczególnie przez regulację zależnej od tlenu ekspresji genów.



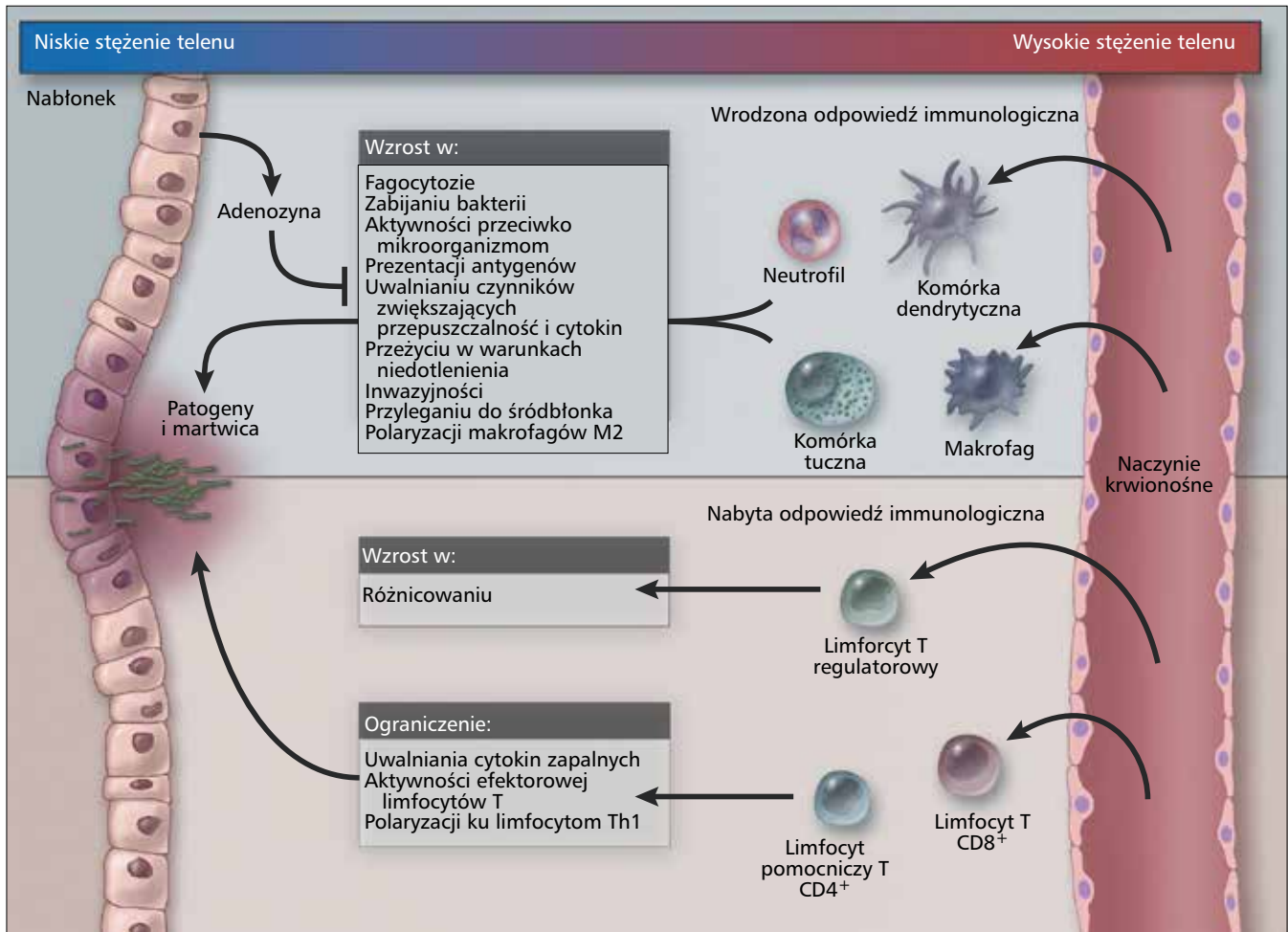
**RYCINA 2. Oddziaływania molekularne między HIF a (kanonicznymi) szlakami NF-κB – schemat.**

W warunkach niedotlenienia (po lewej) podjednostki alfa i beta czynnika indukowanego niedotlenieniem (HIF) przemieszczają się do jądra, gdzie wiążą się, jako heterodimery, z sekwencją promotorową związaną z niedotlenieniem (hypoxia response promoter element, HRE), indukując transkrypcję licznych genów, w tym genu dla jądrowego czynnika κB (NF-κB) i receptorów Toll-podobnych (TLR). W warunkach prawidłowego natlenienia HIF-α ulega hydroksylacji przez hydroksylazy reszt prolinowych (PHD) oraz hamujący czynnik HIF (factor-inhibiting HIF, FIH) i staje się celem dla degradacji w proteosomach (w przypadku PHD) lub osłabieniu ulega jego zdolność do stymulacji transkrypcji (w przypadku FIH, nie pokazano na rycinie). W komórkach w stanie spoczynku (po prawej) NF-κB heterodimer złożony z podjednostek p50 i p65 jest nieaktywny w cytozolu, ponieważ jest związany z czynnikiem jądrowym dla wzmacniacza genu dla lekkiego polipeptydu kappa w komórkach B alfa (IκBα), regulatorowym składnikiem NF-κB. W chwili aktywacji komórkowej podjednostka beta kompleksu kinazy IκB (IKKβ) fosforyluje inhibitor IκBα, który dzięki temu ulega degradacji i uwalnia NF-κB, co pozwala na translokację NF-κB do jądra, gdzie może aktywować transkrypcję genów, których produkty związane są ze stanem zapalnym oraz HIF (geny zaangażowane w ochronę komórki i homeostazę nie zostały pokazane). PHD i FIH regulują aktywację NF-κB, kontrolując aktywność IKKβ.

## HIF a detekcja stężeń tlenu

Przystosowanie komórek do niedotlenienia opiera się na działaniu czynnika transkrypcji HIF, który jest nieaktywny w warunkach wystarczającej dostępności tlenu, ale ulega aktywacji w warunkach niedotlenienia (ryc. 2) [1,17]. Katalizowana przez PHD, zależna od tlenu, hydroksylacja reszt proliny w HIF-1α lub HIF-2α w heterodimerze HIF tworzy miejsce wiązania dla produktu genu von Hippel-Lindau (VHL), będącego składnikiem kompleksu ligazy ubikwityny E3. Wiązanie produktu genu VHL do HIF-1α (lub HIF-2α) prowadzi do zniszczenia podjednostki w proteosomach [18]. Po-

nadto hydroksylacja reszt asparaginowych w HIF-1α (lub HIF-2α) przez czynnik hamujący HIF – zależna od tlenu hydroksylaza reszt asparaginowych – ogranicza aktywność transkrypcyjną HIF [19]. Czynność obu hydroksylaz (PHD i hamującej czynnika HIF) zależy od stężenia tlenu [1,17]. Wykazano, że mutacje linii zarodkowej w genie *PHD2* związane są z rodzinną erytrocytozą oraz zespołem rodzinnej erytrocytozy z nerwiakiem przyzwojowym [20]. Obecność inaktywujących mutacji w obu kopiach genu *VHL* prowadzi do choroby Von Hippel-Lindau (charakteryzującej się występowaniem hemangioblastoma, raków jasnokomórkowych nerek i guzów chromochłonnych) [18].



**RYCINA 3. Wpływ niedotlenienia na wrodzoną i nabytą odpowiedź immunologiczną.**

Na schemacie nabłonek (po lewej) ulega przerwananiu przez inwazyjne działanie patogenów, co prowadzi do uszkodzenia tkanki. Wynikiem jest uruchomienie odpowiedzi odpornościowej z udziałem komórek zaangażowanych w odpowiedź wrodzoną jako mechanizmu obrony gospodarza, który ulega nasileniu przez rekrutowane do miejsca zakażenia uczestniczące w tym mechanizmie obronnym komórki. Ogólnie niedotlenienie wzmacnia aktywność komórek odporności wrodzonej, jednocześnie hamując odpowiedź adaptacyjną (nabytą), częściowo przez promocję różnicowania limfocytów T regulatorowych oraz hamowanie czynności limfocytów pomocniczych T CD4<sup>+</sup> (Th) i cytotoksycznych CD8<sup>+</sup> oraz polaryzacji ku limfocytom Th typu 1 (Th1). Hamując odpowiedź adaptacyjną, niedotlenienie zapobiega nadmiernej aktywacji układu odpornościowego, co mogłoby prowadzić do zniszczenia nie tylko organizmu inwazyjnego, ale także tkanek gospodarza.

HIF może być aktywowany w warunkach prawidłowego natlenienia, co pozwala na inicjację odpowiedzi zapalnej zanim dojdzie do niedotlenienia tkanek. Przykład stanowi wzrost transkrypcji HIF-1 $\alpha$  w odpowiedzi na obecność bakteryjnych polisacharydów [21] oraz stabilizacja HIF-1 $\alpha$  w sytuacji, gdy wolne rodniki tlenowe i zredukowane jony żelaza komórkowego hamują hydroksylazę reszt proliny [22,23].

Fenotyp myszy z niedoborem HIF-1 $\alpha$  różni się od fenotypu myszy z niedoborem HIF-2 $\alpha$ , co wskazuje, że te elementy czynnika transkrypcji HIF działają na różne geny docelowe [24]. W pewnych postaciach rodzinnej erytrocytozy gen *HIF2A* zawiera mutację typu nabycia funkcji, która prawdopodobnie prowadzi do stabilizacji białka HIF-2 $\alpha$  w warunkach prawidłowego natlenienia [25].

## Przekazywanie sygnałów w warunkach niedotlenienia i NF- $\kappa$ B

Białka należące do rodziny czynników transkrypcji obejmującej jądrowy czynnik  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) regulują przebieg zapalenia oraz sterują odpowiedzią układu immunologicznego i homeostazą tkankową [26-28]. Białka należące do tej rodziny oddziałują z elementami szlaku PHD-HIF, łącząc procesy zapalne z niedotlenieniem (ryc. 2) [29]. Badania z wykorzystaniem mysiego modelu zapalnej choroby jelit wskazują, że PHD pełni rolę regulatora antyapoptotycznego działania NF- $\kappa$ B w zapaleniu jelit [30,31]. W niedotlenieniu związanym z niedokrwiem – reperfuzyją – jelit dochodzi do aktywacji NF- $\kappa$ B w komórkach nabłonka jelita cienkiego, co pro-



wadzi do nasilenia produkcji czynnika martwicy nowotworów (TNF- $\alpha$ ), cytokiny prozapalnej, ale jednocześnie ogranicza apoptozę komórek nabłonka jelit [32]. Dodatkowe oddziaływania między niedotlenieniem a stanem zapalnym obserwuje się w kompleksie kinazy I $\kappa$ B, regulatorowym składniku NF- $\kappa$ B (ryc. 2) [30], oraz w regulacji transkrypcji HIF-1 $\alpha$  przez NF- $\kappa$ B, przed i w trakcie reakcji zapalnej [33,34]. Niedotlenienie nasila przekazywanie sygnału przez szlak NF- $\kappa$ B, zwiększając ekspresję i przekazywanie sygnałów przez TLR, co prowadzi do nasilenia produkcji czynników przeciwbakteryjnych, stymuluje fagocytozę, rekrutację leukocytów i odpowiedź adaptacyjną (nabytą) [35].

### Szlak przekazywania sygnałów związany z niedotlenieniem a odporność wrodzona

Początkowa obrona przed patogenami polega na aktywacji neutrofilów, makrofagów, komórek tucznych oraz komórek NK. Te elementy wrodzonej odpowiedzi układu immunologicznego mogą szybko usuwać patogeny i przekazywać sygnały wzmacniające odpowiedź nabytą. Komórki szpikopochodne dysponują mechanizmami zależnymi od HIF, które pozwalają im na funkcjonowanie w mikrośrodowiskach niedotlenienia [36]. Fagocyty pozbawione HIF-1 $\alpha$  nie mogą skutecznie eliminować bakterii, ale przyczyniają się do powstawania zmian wrzodziejących [36,37].

HIF-1 $\alpha$  reguluje wiele funkcji komórek wywodzących się ze szpiku (ryc. 3) [38]. Umożliwia m.in. wytwarzanie ATP w tkankach objętych zapaleniem, z niedoborami tlenu, pośrednio stymulując agregację, przemieszczanie się, inwazyjność i aktywność tych komórek skierowaną przeciwko bakteriom [36,37]. HIF-1 $\alpha$  wydłuża także długość życia neutrofilów w warunkach niedotlenienia, hamując apoptozę [39]. W chorobie von Hippel-Landau apoptoza neutrofilów jest ograniczona, a komórki te wykazują nasiloną fagocytozę bakterii w warunkach prawidłowego utlenienia, prawdopodobnie dzięki nieskutecznej degradacji HIF-1 $\alpha$  [40].

### Niedotlenienie a odpowiedź adaptacyjna

HIF-1 $\alpha$  wpływa także na przebieg odpowiedzi nabytej [41]. U myszy, których limfocyty nie wytwarzają HIF-1 $\alpha$ , stężenie przeciwciał przeciwko dwuniciowemu DNA oraz stężenie czynnika reumatoidalnego w surowicy jest podwyższone, stwierdza się u nich ponadto białkomocz oraz złożgi IgG i IgM w nerkach [42]. Wzrost produkcji HIF-1 $\alpha$  w limfocytach T indukuje przesunięcie równowagi z fenotypu limfocytów pomocniczych T typu 1 (Th1), związanego z nasileniem funkcji makrofagów i cytotoksycznych limfocytów T, do fenotypu limfocytów pomocniczych T typu 2 (Th2), co prowadzi do zahamowania

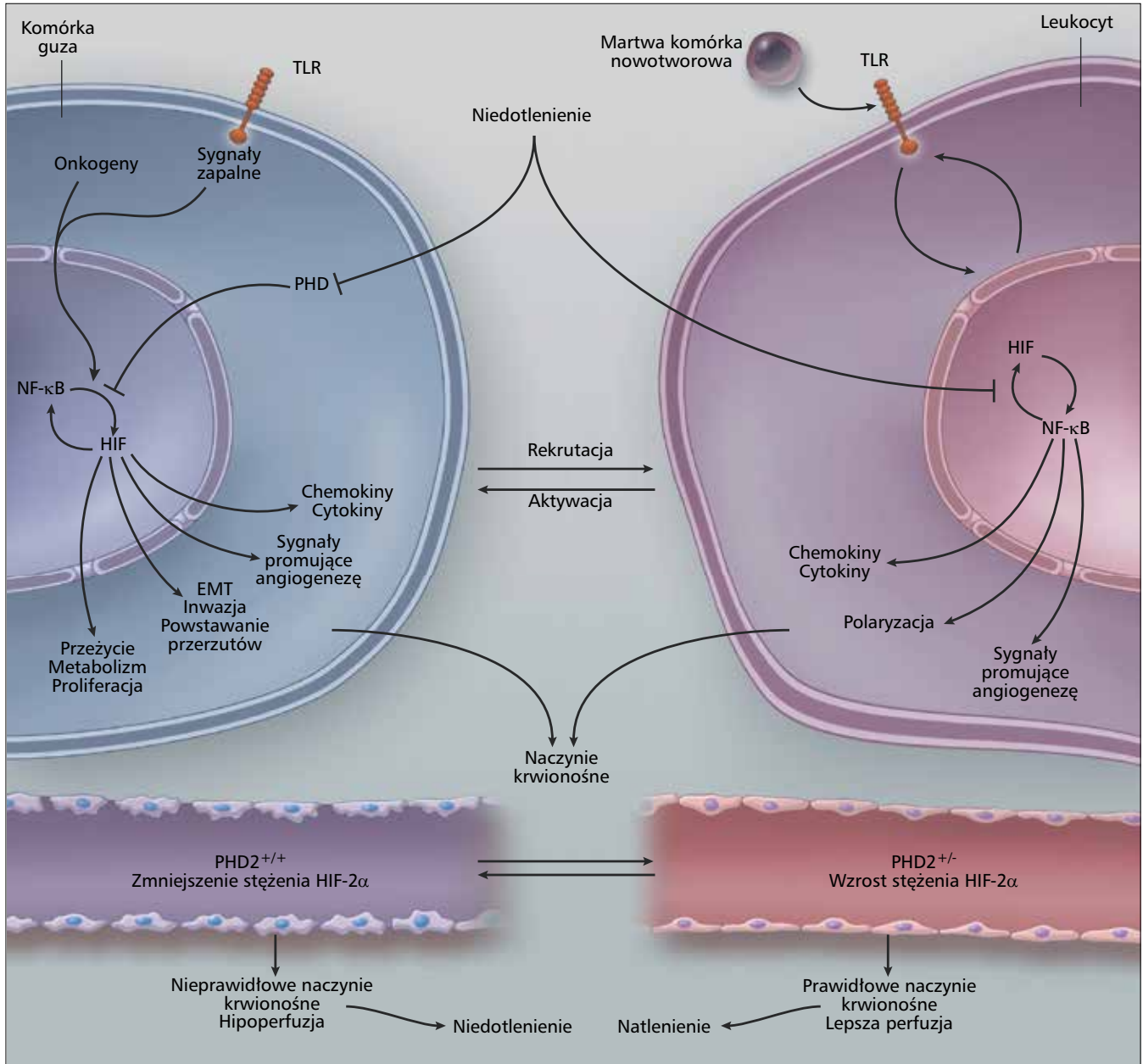
aktywności przeciwbakteryjnej, w czym pośredniczą Th1 na drodze zwiększenia produkcji interleukiny 10 i obniżenia stężeń interferonu  $\gamma$  [43]. HIF wpływa także na regulatorowe limfocyty T [44], wyspecjalizowaną podgrupę hamujących limfocytów T [45]. Szlaki przekazywania sygnałów indukowane niedotlenieniem stymulują różnicowanie i proliferację regulatorowych limfocytów T oraz prowadzą do wzrostu zewnątrzkomórkowych stężeń adenozyiny [46], co chroni tkanki dzięki ograniczaniu efektorowych działań limfocytów T [47].

### Odpowiedź nabłonka na zapalenie z niedotlenienia

Aktywacja szlaku PHD-HIF sprzyja ustąpieniu zapalenia błony śluzowej u myszy [48]. Indukowane niedotlenieniem zmiany w ekspresji genów komórek nabłonka pomagają w promocji czynności błony śluzowej (np. aktywując tzw. trójlistny czynnik jelitowy, intestinal trefoil factor) [49] lub w zwiększaniu produkcji przez nabłonek cząsteczek przeciwzapalnych, takich jak adenozyina [50]. Taka odpowiedź adaptacyjna na niedotlenienie jest aktywowana w stanie zapalnym błony śluzowej, sprzyja ustępowaniu zapalnych chorób jelit [14,51-53] czy ostrego uszkodzenia płuc [5,6,54-56]. U myszy z delecją HIF-1 $\alpha$  w komórkach nabłonka jelita cienkiego w porównaniu z myszami z nienaruszonym genem dla HIF-1 $\alpha$  dochodzi do cięższego zapalenia jelita po ekspozycji na kwas benzenosulfonowy. Z kolei u myszy z zapalną chorobą jelit i zwiększonym stężeniem HIF wywołanym niedoborem produktu genu VHL w porównaniu ze zwierzętami z grupy kontrolnej obserwowano ograniczenie utraty masy ciała, zmniejszenie aktywności choroby oraz zmian zapalnych w jelitach [14]. U myszy z zapaleniem jelita indukowanym chemicznie – podaniem siarczanu dekstranu, leczenie związkami farmakologicznymi wzmagającymi stabilizację HIF ogranicza stany zapalne w jelicie cienkim [51,52].

W badaniach wykazano, że niedotlenienie nasila enzymatyczną konwersję nukleotydów prekursorowych, takich jak ATP, adenylozynytrifosforan czy AMP, do adenozyiny [7,59], co prowadzi do wzrostu w środowisku zewnątrzkomórkowym stężenia adenozyiny, cząsteczki o działaniu przeciwzapalnym, zaangażowanej w ograniczanie wrodzonej odpowiedzi układu immunologicznego [54,60]. Polimorfizm pojedynczego nukleotydu w genie dla CD39, enzymu wymagającego pozakomórkowej produkcji adenozyiny, wiąże się z małymi stężeniami CD39 [61]. W badaniu porównawczym ten wariant genetyczny stwierdzano u pacjentów z chorobą Crohna częściej niż u osób zdrowych [61].

HIF stymuluje zewnątrzkomórkową produkcję adenozyiny [62,63] i hamuje jej pobieranie przez komórki i jej metabolizm wewnątrz komórek [64,65]. HIF wzmacnia także przekazywanie sygnałów za pośrednictwem



#### RYCINA 4. Związek między niedotlenieniem a zapaleniem w nowotworach – schemat.

W komórkach guza onkogeny, sygnały zapalne (przekazywane za pośrednictwem receptorów toll-podobnych [TLR]) i niedotlenienie aktywują jądrowy czynnik  $\kappa\text{B}$  (NF- $\kappa\text{B}$ ) oraz indukowany niedotlenieniem czynnik (HIF)  $1\alpha$  (nawzajem się aktywujące). Czynniki te indukują program ekspresji genów prowadzący (za pośrednictwem uwalnianych cytokin i chemokin) do rekrutacji i aktywacji leukocytów, stymulacji angiogenezy, powstawania nieprawidłowego unaczynienia i śródbłonna (za pośrednictwem uwalnianych sygnałów promujących angiogenezę), wzrostu inwazyjności komórek rakowych, powstawania przerzutów, transycji nablonek-mezenchyma (epithelial-to-mezenchymal transition, EMT), wydłużenia przeżycia, nasilenia proliferacji oraz zmian w procesach metabolicznych. W leukocytach niedotlenienie prowadzi też do aktywacji NF- $\kappa\text{B}$  i HIF- $1\alpha$ , a HIF- $1\alpha$  reguluje ekspresję TLR. Uruchomiony w wyniku tych procesów profil ekspresji genów prowadzi do produkcji cytokin oraz sygnałów angiogennych i zmienia ich fenotyp polaryzacyjny. Naczynia guza, których komórki zawierają dwa allele domeny 2 hydrolazy reszt prolinowych (prolyl hydrolase domain 2, PHD2) mają nieprawidłowy śródbłonek, są niedostatecznie perfundowane i prowadzą do niedotlenienia guza, co nasila inwazyjność komórek nowotworowych i może prowadzić do powstawania przerzutów. W naczyniach guza bez jednego allele PHD2 stężenie HIF- $2\alpha$  jest z kolei zwiększone, co prowadzi do wzrostu ekspresji czynników ograniczających powstawanie zaburzeń śródbłonna w guzie. Wynikiem jest poprawa perfuzji naczyń krwionośnych guza oraz natlenienia i, w konsekwencji, ograniczenie powstawania przerzutów.

receptorów, zwiększając ekspresję receptorów dla adenozyiny na powierzchni komórek [63,66,67]. Działanie to ogranicza odpowiedź układu odpornościowego, przepuszczalność naczyń oraz gromadzenie neutrofilów w niedotlenieniu mięśnia sercowego, nerek, wątroby czy jelita cienkiego oraz w ostrym uszkodzeniu płuc [50,56,68,69]. Zależna od HIF indukcja szlaku sygnałowego z udziałem netryny 1 w nabłonku zakłóca migrację komórek zapalnych do niedotlenionych narządów, wzmagając zewnątrzkomórkowe przekazywanie sygnałów za pośrednictwem adenozyiny [5]. Inne badania wykazały, że HIF osłabia także zapalenie nabłonka, indukując czynnik przyspieszający rozpad (usuwiający neutrofile z nabłonka) [70] i ekspresję genów zaangażowanych w działanie bariery ochronnej w doświadczalnym modelu zapalenia jelita grubego lub niedotlenienia [14,49].

## Nowotwór

Stężenie tlenu w guzach litych często jest mniejsze niż w tkankach zdrowych [71]. W guzach litych stężenia HIF-1 $\alpha$  i HIF-2 $\alpha$  są zwiększone, co koreluje z częstością zgonów w chorobach nowotworowych [71]. Podwyższone stężenia HIF-1 $\alpha$  i HIF-2 $\alpha$  w biopsjach z guzów gruczołu krokowego związane są z niepomyślnymi wynikami leczenia [72]. Niedotlenienie w guzach litych prowadzi do stabilizacji HIF na drodze zależnego od niedotlenienia hamowania PHD. Podobnie onkogeny lub utrata funkcji przez geny-supresory nowotworu prowadzą do stabilizacji HIF, co ma miejsce w przypadku genu-supresora nowotworu VHL. W chorobie von Hippel-Lindau inaktywujące mutacje w komórkach linii zarodkowej zwiększają prawdopodobieństwo rozwoju raka jasnokomórkowego nerek i innych typów guzów [73]. Szlaki procesów związanych z niedotlenieniem i zapaleniem mają kilka wspólnych punktów w procesach nowotworzenia (ryc. 4). Aktywacja HIF w niedotlenionym guzie lub w komórkach zrębu w obrębie guza nasila jego waskularyzację [24,74]. Nasilenie procesów prowadzących do wytwarzania sieci naczyniowej zmienia charakterystykę morfologiczną naczyń guza oraz wyściełającego je śródbłonna, co prowadzi do zaburzeń w dostarczaniu tlenu [75]. Komórki zapalne przyczyniają się także do zaburzeń w naczyniach krwionośnych guza, uwalniając czynnik wzrostu śródbłonna (vascular endothelial growth factor, VEGF).

U myszy delecja jednego allelu PHD2 zmniejsza przepuszczalność naczyń krwionośnych guza oraz ogranicza zaburzenia w budowie naczyń, jednocześnie polepszając architekturę sieci naczyniowej guza (tzw. normalizacja naczyniowa, definiowana jako wyraźniej zaznaczone granice i punkty rozgałęzień naczyń guza) [76] oraz jego natlenienie [77]. Zmiana ta jest związana z ograniczeniem inwazyjności komórek guza i ryzyka powstawania prze-

rzutów [77]. Odkrycie to wskazuje, że komórki śródbłonna wykorzystują PHD do detekcji i korekty zaburzeń równowagi w dostarczaniu tlenu. Leki skierowane przeciwko PHD mogą stanowić nowe narzędzie do walki w leczeniu raka, ponieważ poprawiają architekturę i funkcjonowanie naczyń guza [78].

Dane doświadczalne wskazują, że zahamowanie HIF w objętym stanem zapalnym rdzeniu guza osłabia rozwój i unaczynienie guzów, zwiększając ich wrażliwość na radioterapię [79]. Z kolei zahamowanie PHD i stabilizacja HIF w sieci naczyniowej guza mogą odgrywać ważną rolę w leczeniu, jeśli odkryte zostaną metody selektywnego, bezpośredniego dostarczania inhibitorów PHD do sieci naczyń guza oraz inhibitorów HIF do niedotlenionego rdzenia.

## Zakażenia

Do stabilizacji HIF i indukcji ekspresji zależnych od HIF genów dochodzi w trakcie zakażeń patogenami. Na przykład zakażenie *Bartonella henselae* – czynnikiem zakaźnym wywołującym bakteryjną angiomatozę (naczylniakowatość bakteryjną) – związane jest ze stabilizacją HIF-1 $\alpha$  i transkrypcją genów zwykle ulegających transkrypcji w warunkach niedotlenienia [16]. W zakażonych komórkach zmiany w zużyciu tlenu, podobnie jak niedotlenienie i zmniejszenie stężenia ATP, korelują ze stabilizacją HIF oraz uwalnianiem czynników angiogennych w bakteryjnej angiomatozie [16]. Stabilizacja HIF podczas zakażeń może następować niezależnie od tlenu [80]. Na przykład w warunkach prawidłowego natlenienia pobieranie żelaza przez bakterie ogranicza aktywność PHD, stabilizuje HIF-1 $\alpha$  i indukuje ekspresję genów docelowych dla HIF [81-83]. Stabilizację HIF-1 $\alpha$  stwierdzono w biopsjach wątroby pacjentów z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C [84] i w biopsjach skóry chorych z zakażeniem wywołanym *Staphylococcus aureus*, wirusem ospy wietrznej i półpaśca, ludzkim wirusem opryszczki typu 8 czy *Candida albicans* [85].

Patogeny mogą wykorzystać szlak HIF gospodarza dla własnych korzyści. *Pseudomonas aeruginosa* gwałtownie inaktywuje adenozyinę produkowaną przez komórki gospodarza w szlaku zależnym od HIF, pozbawiając w ten sposób komórki nabłonka gospodarza czynnego zewnątrzkomórkowego szlaku przekazywania sygnałów za pośrednictwem adenozyiny, warunkującego czynność bariery jelitowej podczas zapalenia i niedotlenienia [62,86-88].

Podczas zakażenia *Streptococcus* z grupy A lub *P. aeruginosa* HIF-1 $\alpha$  w komórkach układu odpornościowego indukuje stan zapalny, co pomaga w eliminacji patogenu. U myszy pozbawionych HIF-1 $\alpha$  aktywność przeciwbakteryjna jest osłabiona w komórkach pochodzenia szpikowego, a układowe rozprzestrzenienie się zakażenia na organizm nie może być opanowane [37].

## Podsumowanie

Niedotlenienie i stan zapalny są ze sobą powiązane na poziomie molekularnym, komórkowym i klinicznym. Mechanizmy detekcji tlenu oraz szlaki przekazywania sygnałów związane z niedotlenieniem stanowią potencjalne cele terapeutyczne dla leczenia chorób zapalnych. Wartość wyboru takich celów mogłaby zostać poddana ocenie u chorych z ostrym uszkodzeniem płuc, niedokrwieniem mięśnia sercowego, chorobami zapalnymi jelit czy nowotworami. Skierowanie leczenia na szlaki przekazywania sygnałów zależne od niedotlenienia może też pomóc w ograniczeniu niewydolności narządowej wynikającej z niedokrwienia u chorych poddanych dużym zabiegom chirurgicznym lub ograniczyć zapalenie będące wynikiem niedotlenienia przeszczepów po przeszczepieniach narządów.

Wypełnione przez autorów formularze dotyczące potencjalnych konfliktów interesów są dostępne razem z pełnym tekstem niniejszego artykułu na stronie internetowej NEJM.org.

From The New England Journal of Medicine 2011; 364: 656-665. Translated and reprinted in its entirety with permission of the Massachusetts Medical Society. Copyright © 2011 Massachusetts Medical Society. All Rights Reserved.

## Piśmiennictwo

1. Semenza GL. Life with oxygen. *Science* 2007; 318: 62-4.
2. Hackett PH, Roach RC. High-altitude illness. *N Engl J Med* 2001; 345: 107-14.
3. Grocott MPW, Martin DS, Levett DZH, et al. Arterial blood gases and oxygen content in climbers on Mount Everest. *N Engl J Med* 2009; 360: 140-9.
4. Hartmann G, Tschöp M, Fischer R, et al. High altitude increases circulating interleukin-6, interleukin-1 receptor antagonist and C-reactive protein. *Cytokine* 2000; 12: 246-52.
5. Rosenberger P, Schwab JM, Mirakaj V, et al. Hypoxia-inducible factor-dependent induction of netrin-1 dampens inflammation caused by hypoxia. *Nat Immunol* 2009; 10: 195-202.
6. Eckle T, Faigle M, Grenz A, et al. A2B adenosine receptor dampens hypoxia-induced vascular leak. *Blood* 2008; 111: 2024-35.
7. Eltzschig HK, Ibla JC, Furuta GT, et al. Coordinated adenosine nucleotide phosphohydrolysis and nucleoside signaling in posthypoxic endothelium: role of ectonucleotidases and adenosine A2B receptors. *J Exp Med* 2003; 198: 783-96.
8. Thompson LF, Eltzschig HK, Ibla JC, et al. Crucial role for ecto-5'-nucleotidase (CD73) in vascular leakage during hypoxia. *J Exp Med* 2004; 200: 1395-405.
9. Eltzschig HK, Abdulla P, Hoffman E, et al. HIF-1-dependent repression of equilibrative nucleoside transporter (ENT) in hypoxia. *J Exp Med* 2005; 202: 1493-505.
10. Krüger B, Krick S, Dhillon N, et al. Donor Toll-like receptor 4 contributes to ischemia and reperfusion injury following human kidney transplantation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 3390-5.
11. De Perrot M, Sekine Y, Fischer S, et al. Interleukin-8 release during early reperfusion predicts graft function in human lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 211-5.
12. Andrade CF, Kaneda H, Der S, et al. Toll-like receptor and cytokine gene expression in the early phase of human lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2006; 25: 1317-23.
13. Ye J. Emerging role of adipose tissue hypoxia in obesity and insulin resistance. *Int J Obes (Lond)* 2009; 33: 54-66.
14. Karhausen J, Furuta GT, Tomaszewski JE, et al. Epithelial hypoxia-inducible factor-1 is protective in murine experimental colitis. *J Clin Invest* 2004; 114: 1098-106.
15. Giatromanolaki A, Sivridis E, Maltezos E, et al. Hypoxia-inducible factor 1alpha and 2alpha overexpression in inflammatory bowel disease. *J Clin Pathol* 2003; 56: 209-13.
16. Kempf VA, Lebedziejewski M, Alitalo K, et al. Activation of hypoxia-inducible factor-1 in bacillary angiomatosis: evidence for a role of hypoxia-inducible factor-1 in bacterial infections. *Circulation* 2005; 111: 1054-62.
17. Kaelin WG Jr, Ratcliffe PJ. Oxygen sensing by metazoans: the central role of the HIF hydroxylase pathway. *Mol Cell* 2008; 30: 393-402.
18. Kaelin WG. Von Hippel-Lindau disease. *Annu Rev Pathol* 2007; 2: 145-73.
19. Coleman ML, Ratcliffe PJ. Signalling cross talk of the HIF system: involvement of the FIH protein. *Curr Pharm Des* 2009; 15: 3904-7.
20. Ladroue C, Carcenac R, Leporrier M, et al. PHD2 mutation and congenital erythrocytosis with paraganglioma. *N Engl J Med* 2008; 359: 2685-92.
21. Blouin CC, Pagé EL, Soucy GM, et al. Hypoxic gene activation by lipopolysaccharide in macrophages: implication of hypoxia-inducible factor 1alpha. *Blood* 2004; 103: 1124-30.
22. Cash TP, Pan Y, Simon MC. Reactive oxygen species and cellular oxygen sensing. *Free Radic Biol Med* 2007; 43: 1219-25.
23. Knowles HJ, Mole DR, Ratcliffe PJ, et al. Normoxic stabilization of hypoxia-inducible factor-1alpha by modulation of the labile iron pool in differentiating U937 macrophages: effect of natural resistance-associated macrophage protein 1. *Cancer Res* 2006; 66: 2600-7.
24. Fraisl P, Mazzone M, Schmidt T, et al. Regulation of angiogenesis by oxygen and metabolism. *Dev Cell* 2009; 16: 167-79.
25. Percy MJ, Furlow PW, Lucas GS, et al. A gain-of-function mutation in the HIF2A gene in familial erythrocytosis. *N Engl J Med* 2008; 358: 162-8.
26. Naugler WE, Karin M. NF-kappaB and cancer-identifying targets and mechanisms. *Curr Opin Genet Dev* 2008; 18: 19-26.
27. Vallabhapurapu S, Karin M. Regulation and function of NF-kappaB transcription factors in the immune system. *Annu Rev Immunol* 2009; 27: 693-733.
28. Pasparakis M. IKK/NF-kappaB signaling in intestinal epithelial cells controls immune homeostasis in the gut. *Mucosal Immunol* 2008; 1: Suppl 1: S54-S57.
29. Taylor CT. Interdependent roles for hypoxia inducible factor and nuclear factor-kappaB in hypoxic inflammation. *J Physiol* 2008; 586: 4055-9.
30. Cummins EP, Berra E, Comerford KM, et al. Prolyl hydroxylase-1 negatively regulates IkkappaB kinase-beta, giving insight into hypoxia-induced NFkappaB activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 18154-9.
31. Tambuwala MM, Cummins EP, Lenihan CR, et al. Loss of prolyl hydroxylase-1 protects against colitis through reduced epithelial cell apoptosis and increased barrier function. *Gastroenterology* 2010 June 30 (Ogłoszono on-line przed publikacją).
32. Chen LW, Egan L, Li ZW, et al. The two faces of IKK and NF-kappaB inhibition: prevention of systemic inflammation but increased local injury following intestinal ischemiareperfusion. *Nat Med* 2003; 9: 575-81.



33. Bonello S, Zähringer C, BelAiba RS, et al. Reactive oxygen species activate the HIF-1 $\alpha$  promoter via a functional NF $\kappa$ B site. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 755-61.
34. Rius J, Guma M, Schachtrup C, et al. NF- $\kappa$ B links innate immunity to the hypoxic response through transcriptional regulation of HIF-1 $\alpha$ . *Nature* 2008; 453: 807-11.
35. Kuhlicke J, Frick JS, Morote-Garcia JC, et al. Hypoxia inducible factor (HIF)-1 coordinates induction of Toll-like receptors TLR2 and TLR6 during hypoxia. *PLoS One* 2007; 2 (12): e1364.
36. Cramer T, Yamanishi Y, Clausen BE, et al. HIF-1 $\alpha$  is essential for myeloid cell-mediated inflammation. *Cell* 2003; 112: 645-57. [Erratum, *Cell* 2003; 113: 419.]
37. Peyssonnaud C, Datta V, Cramer T, et al. HIF-1 $\alpha$  expression regulates the bactericidal capacity of phagocytes. *J Clin Invest* 2005; 115: 1806-15.
38. Nizet V, Johnson RS. Interdependence of hypoxic and innate immune responses. *Nat Rev Immunol* 2009; 9: 609-17.
39. Walmsley SR, Print C, Farahi N, et al. Hypoxia-induced neutrophil survival is mediated by HIF-1 $\alpha$ -dependent NF- $\kappa$ B activity. *J Exp Med* 2005; 201: 105-15.
40. Walmsley SR, Cowburn AS, Clatworthy MR, et al. Neutrophils from patients with heterozygous germline mutations in the von Hippel Lindau protein (pVHL) display delayed apoptosis and enhanced bacterial phagocytosis. *Blood* 2006; 108: 3176-8.
41. Sitkovsky M, Lukashov D. Regulation of immune cells by local-tissue oxygen tension: HIF1 $\alpha$  and adenosine receptors. *Nat Rev Immunol* 2005; 5: 712-21.
42. Kojima H, Gu H, Nomura S, et al. Abnormal B lymphocyte development and autoimmunity in hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ -deficient chimeric mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 2170-4.
43. Ben-Shoshan J, Afek A, Maysel-Auslender S, et al. HIF-1 $\alpha$  overexpression and experimental murine atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29: 665-70.
44. Ben-Shoshan J, Maysel-Auslender S, Mor A, et al. Hypoxia controls CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T-cell homeostasis via hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ . *Eur J Immunol* 2008; 38: 2412-8.
45. D'Alessio FR, Tsushima K, Aggarwal NR, et al. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Tregs resolve experimental lung injury in mice and are present in humans with acute lung injury. *J Clin Invest* 2009; 119: 2898-913.
46. Deaglio S, Dwyer KM, Gao W, et al. Adenosine generation catalyzed by CD39 and CD73 expressed on regulatory T cells mediates immune suppression. *J Exp Med* 2007; 204: 1257-65.
47. Sitkovsky MV. T regulatory cells: hypoxia-adenosinergic suppression and redirection of the immune response. *Trends Immunol* 2009; 30: 102-8.
48. Colgan SP, Taylor CT. Hypoxia: an alarm signal during intestinal inflammation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 281-7.
49. Furuta GT, Turner JR, Taylor CT, et al. Hypoxia-inducible factor 1-dependent induction of intestinal trefoil factor protects barrier function during hypoxia. *J Exp Med* 2001; 193: 1027-34.
50. Eltzschig HK. Adenosine: an old drug newly discovered. *Anesthesiology* 2009; 111: 904-15.
51. Robinson A, Keely S, Karhausen J, et al. Mucosal protection by hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase inhibition. *Gastroenterology* 2008; 134: 145-55.
52. Cummins EP, Seeballuck F, Keely SJ, et al. The hydroxylase inhibitor dimethylxalylglycine is protective in a murine model of colitis. *Gastroenterology* 2008; 134: 156-65.
53. Taylor CT, Colgan SP. Hypoxia and gastrointestinal disease. *J Mol Med* 2007; 85: 1295-300.
54. Ohta A, Sitkovsky M. Role of G-protein-coupled adenosine receptors in downregulation of inflammation and protection from tissue damage. *Nature* 2001; 414: 916-20.
55. Thiel M, Chouker A, Ohta A, et al. Oxygenation inhibits the physiological tissue-protecting mechanism and thereby exacerbates acute inflammatory lung injury. *PLoS Biol* 2005; 3 (6): e174.
56. Eckle T, Grenz A, Laucher S, et al. A2B adenosine receptor signaling attenuates acute lung injury by enhancing alveolar fluid clearance in mice. *J Clin Invest* 2008; 118: 3301-15.
57. Reutershan J, Vollmer I, Stark S, et al. Adenosine and inflammation: CD39 and CD73 are critical mediators in LPS-induced PMN trafficking into the lungs. *FASEB J* 2009; 23: 473-82.
58. Schingnitz U, Hartmann K, Macmanus CF, et al. Signaling through the A2B adenosine receptor dampens endotoxin-induced acute lung injury. *J Immunol* 2010; 184: 5271-9.
59. Eltzschig HK, Kohler D, Eckle T, et al. Central role of Sp1-regulated CD39 in hypoxia/ischemia protection. *Blood* 2009; 113: 224-32.
60. Sitkovsky MV, Lukashov D, Apasov S, et al. Physiological control of immune response and inflammatory tissue damage by hypoxia-inducible factors and adenosine A2A receptors. *Annu Rev Immunol* 2004; 22: 657-82.
61. Friedman DJ, Künzli BM, A-Rahim YI, et al. CD39 deletion exacerbates experimental murine colitis and human polymorphisms increase susceptibility to inflammatory bowel disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 16788-93.
62. Synnestvedt K, Furuta GT, Comerford KM, et al. Ecto-5-nucleotidase (CD73) regulation by hypoxia-inducible factor-1 mediates permeability changes in intestinal epithelia. *J Clin Invest* 2002; 110: 993-1002.
63. Eckle T, Köhler D, Lehmann R, et al. Hypoxia-inducible factor-1 is central to cardioprotection: a new paradigm for ischemic preconditioning. *Circulation* 2008; 118: 166-75.
64. Morote-Garcia JC, Rosenberger P, Kuhlicke J, et al. HIF-1-dependent repression of adenosine kinase attenuates hypoxia-induced vascular leak. *Blood* 2008; 111: 5571-80.
65. Morote-Garcia JC, Rosenberger P, Nivillac NM, et al. Hypoxia-inducible factor-dependent repression of equilibrative nucleoside transporter 2 attenuates mucosal inflammation during intestinal hypoxia. *Gastroenterology* 2009; 136: 607-18.
66. Eckle T, Krahn T, Grenz A, et al. Cardioprotection by ecto-5-nucleotidase (CD73) and A2B adenosine receptors. *Circulation* 2007; 115: 1581-90.
67. Kong T, Westerman KA, Faigle M, et al. HIF-dependent induction of adenosine A2B receptor in hypoxia. *FASEB J* 2006; 20: 2242-50.
68. Köhler D, Eckle T, Faigle M, et al. CD39/ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 1 provides myocardial protection during cardiac ischemia/reperfusion injury. *Circulation* 2007; 116: 1784-94. [Erratum, *Circulation* 2007; 116 (18): e514.]
69. Grenz A, Osswald H, Eckle T, et al. The reno-vascular A2B adenosine receptor protects the kidney from ischemia. *PLoS Med* 2008; 5 (6): e137.
70. Louis NA, Hamilton KE, Kong T, et al. HIF-dependent induction of apical CD55 coordinates epithelial clearance of neutrophils. *FASEB J* 2005; 19: 950-9.
71. Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 721-32.
72. Nanni S, Benvenuti V, Grasselli A, et al. Endothelial NOS, estrogen receptor beta, and HIFs cooperate in the activation of a prognostic transcriptional pattern in aggressive human prostate cancer. *J Clin Invest* 2009; 119: 1093-108.

73. Kaelin WG Jr. The von Hippel-Lindau tumour suppressor protein: O<sub>2</sub> sensing and cancer. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 865-73.
74. Liao D, Johnson RS. Hypoxia: a key regulator of angiogenesis in cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2007; 26: 281-90.
75. De Bock K, De Smet F, Leite De Oliveira R, et al. Endothelial oxygen sensors regulate tumor vessel abnormalization by instructing pericyte endothelial cells. *J Mol Med* 2009; 87: 561-9.
76. Jain RK. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy. *Science* 2005; 307: 58-62.
77. Mazzone M, Dettori D, Leite de Oliveira R, et al. Heterozygous deficiency of PHD2 restores tumor oxygenation and inhibits metastasis via endothelial normalization. *Cell* 2009; 136: 839-51.
78. Jain RK. A new target for tumor therapy. *N Engl J Med* 2009; 360: 2669-71.
79. Semenza GL. Defining the role of hypoxia-inducible factor 1 in cancer biology and therapeutics. *Oncogene* 2010; 29: 625-34.
80. Haerberle HA, Dürrstein C, Rosenberger P, et al. Oxygen-independent stabilization of hypoxia inducible factor (HIF)-1 during RSV infection. *PLoS One* 2008; 3 (10): e3352.
81. Hartmann H, Eltzhig HK, Wurzh H, et al. Hypoxia-independent activation of HIF-1 by enterobacteriaceae and their siderophores. *Gastroenterology* 2008; 134: 756-67.
82. Fraisl P, Aragonés J, Carmeliet P. Inhibition of oxygen sensors as a therapeutic strategy for ischaemic and inflammatory disease. *Nat Rev Drug Discov* 2009; 8: 139-52.
83. Aragonés J, Fraisl P, Baes M, et al. Oxygen sensors at the crossroad of metabolism. *Cell Metab* 2009; 9: 11-22.
84. Ripoli M, D'Aprile A, Quarato G, et al. Hepatitis C virus-linked mitochondrial dysfunction promotes hypoxia-inducible factor 1 alpha-mediated glycolytic adaptation. *J Virol* 2010; 84: 647-60.
85. Werth N, Beerlage C, Rosenberger C, et al. Activation of hypoxia inducible factor 1 is a general phenomenon in infections with human pathogens. *PLoS One* 2010; 5 (7): e11576.
86. Patel NJ, Zaborina O, Wu L, et al. Recognition of intestinal epithelial HIF-1alpha activation by *Pseudomonas aeruginosa*. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G134-42.
87. Hart ML, Henn M, Köhler D, et al. Role of extracellular nucleotide phosphohydrolysis in intestinal ischemia-reperfusion injury. *FASEB J* 2008; 22: 2784-97.
88. Hart ML, Jacobi B, Schittenhelm J, et al. A2B adenosine receptor signaling provides potent protection during intestinal ischemia/reperfusion injury. *J Immunol* 2009; 182: 3965-8.



## Komentarz

dr n. med. Renata Głowczyńska

I Katedra i Klinika Kardiologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

### HIPOKSJA I ZAPALENIE, CZYLI SZACH I MAT

Systematyczny przegląd aktualnej wiedzy na temat powiązań patofizjologicznych hipoksji i stanu zapalnego został przedstawiony w prezentowanym artykule autorstwa dwóch wybitnych ekspertów w dziedzinie hipoksji [1].

Profesor Holger K. Eltzhig jest kierownikiem wiodącego ośrodka naukowego, Center of Hypoxia and Inflammation Research (CHaIR) Uniwersytetu Colorado, którego projekty naukowe skupiają się na wewnętrznych procesach przeciwzapalnych oraz mechanizmach adaptacji do hipoksji. Peter Carmeliet jest natomiast dyrektorem Vesalius Research Center Uniwersytetu w Leuven, którego główne kierunki badań naukowych obejmują procesy angiogenezy.

Hipoksja to zmniejszona podaż tlenu do tkanek, uwarunkowana kilkoma przyczynami, wśród których wymienia się przede wszystkim: obniżenie ciśnienia parcjalnego tlenu w powietrzu wdychanym (hipoksja

hipobaryczna, inaczej wysokogórska), obniżenie prężności tlenu we krwi tętniczej (hipoksja hipoksemiczna), zmniejszenie ilości biologicznie czynnej hemoglobiny (hipoksja wtórna do niedokrwistości), obniżenie przepływu krwi (hipoksja hipokinetyczna), inaktywację niektórych szlaków enzymatycznych wewnątrzkomórkowych wskutek zatrucia cyjankami (hipoksja toksyczna) [2,3].

Główny autor jest praktykującym anestezjologiem, więc w przedstawianym artykule nie zabrakło implikacji klinicznych związku między niedotlenieniem a stanem zapalnym. Podkreślono fakt, że z jednej strony tkanki objęte procesem zapalnym są często niedotlenione, a z drugiej strony stan zapalny może być indukowany przez niedokrwienie. Tworzy się błędne koło. Wśród stanów klinicznych charakteryzujących się niedotlenieniem tkanek prowadzącym do zmian zapalnych wymienia się obrzęk płuc, nowotwory złośliwe i przeszczepienia narządów. Natomiast chorobami

o podłożu zapalnym prowadzącymi do hipoksji są ostre uszkodzenie płuc, nieswoiste choroby zapalne jelit i zakażenia o etiologii bakteryjnej.

Kluczowym elementem dla zrozumienia zależności między niedotlenieniem a stanem zapalnym, jak również między niedotlenieniem a angiogenezą, jest poznanie roli czynnika transkrypcji indukowanego niedotlenieniem – podjednostki 1 (hypoxia-inducible transcription factor, HIF-1). HIF-1 należy do czynników transkrypcyjnych i jego głównym zadaniem jest indukcja genów dla czynników wzrostu, biorących udział m.in. w procesach angiogenezy [4-6], oraz innych genów wrażliwych na hipoksję, w tym kodujących enzymy likwalityczne czy erytropoetynę [7].

Wspomniany proces angiogenezy w powiązaniu z hipoksją i zwiększoną ekspresją HIF-1 ma niekorzystne znaczenie w kontekście unaczynienia guzów nowotworowych. Głównym regulatorem angiogenezy jest naczyniowy czynnik wzrostu śródbłonna (vascular endothelial growth factor, VEGF). Najważniejszym czynnikiem stymulującym produkcję VEGF jest małe ciśnienie parcjalne tlenu [8]. Aczkolwiek ekspresja VEGF jest zwiększona w rozsianych chorobach nowotworowych, przewlekłych stanach zapalnych i chorobach autoimmunologicznych [9]. Obecnie w ramach terapii przeciwnowotworowej stosuje się przeciwciała anti-VEGF, takie jak bewacyzumab, w celu zmniejszenia waskularyzacji guza nowotworowego.

Badacze przytaczają niezwykle interesujące obserwacje z zakresu mikrobiologii zakażeń bakteryjnych wskazujące, że transkrypcja czynnika HIF-1 $\alpha$  wzrasta również w odpowiedzi na obecność bakteryjnych epitopów. HIF-1 wpływa także na przekazywanie sygnałów w szlaku jądrowego czynnika  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), nasilając odpowiedź immunologiczną organizmu w zakresie fagocytozy i produkcji cytokin przeciwzapalnych.

Autorzy prezentowanego artykułu nie poruszają jednak aspektów kardiologicznych zależności między hipoksją a procesem zapalnym. Tymczasem są to ważne elementy procesów patologicznych zachodzących w mięśniu sercowym i naczyniach wieńcowych. Warto chociażby nadmienić o powiązaniach między markerami dysfunkcji śródbłonna, procesu zapalnego (fibrynogen, CRP) a angiogenezą (VEGF, trombospondyna) zaobserwowanych u pacjentów z niewydolnością serca [10,11].

Ponadto dotychczas nie został wyjaśniony mechanizm molekularny indukcji BNP w niedokrwionym miokardium. Jedną z proponowanych hipotez jest wpływ hipoksji w komórkach mięśnia sercowego miokardium na zwiększenie produkcji i sekrecji BNP w miocytach lewej komory w odpowiedzi na wzmożoną aktywność transkrypcyjną HIF-1 [12].

Zaobserwowano również szybki wzrost ekspresji HIF-1 w odpowiedzi na niedokrwienie mięśnia sercowego, co tłumaczone jest jako wyraz adaptacji kardiomiocytów na hipoksję na poziomie komórkowym. Sugeruje się tym samym znaczenie HIF-1 jako markera ostrego uszkodzenia miokardium [13].

W licznych pracach wykazano podwyższone stężenia endogennej erytropoetyny w przypadku niewydolności serca [14] oraz we wczesnej fazie świeżego zawału serca [15]. Natomiast w eksperymentalnej pracy badaczy japońskich wykazano zależność między ekspresją VEGF, HIF-1 a erytropoetyną [16].

Ciekawy aspekt poruszany w artykule dotyczący zależności między hipoksją a procesem zapalnym na poziomie molekularnym i komórkowym należy rozważyć jako mający potencjalnie implikacje praktyczne również w chorobach układu krążenia. Zważywszy na rolę procesów zapalnych w zakresie aterosklerozy oraz znaczenia niedotlenienia, niewątpliwie powiązania te można uznać za ważne w kontekście procesów destabilizacji blaszki miażdżycowej.

Podsumowując, artykuł prezentuje kalejdoskop mechanizmów wzajemnego wpływu hipoksji i zapalenia. Biorąc pod uwagę ich znaczenie patofizjologiczne w rozwoju i przebiegu wielu chorób, można użyć terminologii szachowej w odniesieniu do tych procesów – szach i mat.

## Piśmiennictwo

1. Eltzschig HK, Carmeliet P. Hypoxia and Inflammation. *N Engl J Med* 2011; 364: 656-65.
2. Savourey B, Launay JC, Besnard, Y, et al. Normo- and hypobaric hypoxia: Are there any physiological differences? *Eur J Appl Physiol* 2003; 89: 122-126.
3. Semenza GL, Agani F, Feldser D, et al. Hypoxia, HIF-1, and the pathophysiology of common human diseases. *Adv Exp Med Biol* 2000; 475: 123-130.
4. Semenza GL. HIF-1, O (2), and the 3 PHDs: how animal cells signal hypoxia to the nucleus. *Cell* 2001; 107: 1-3.
5. Fox SB, Gasparini G, Harris AL. Angiogenesis: pathological, prognostic, and growth factor pathways and their link to trial design and anticancer drugs. *Lancet Oncol* 2001; 2 (5): 278-290.
6. Pugh CW, Ratcliffe PJ. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system. *Nat Med* 2003; 9: 677-684.
7. Cahan C, Decker MJ, Arnold JL, et al. Erythropoietin levels with treatment of obstructive sleep apnea. *J Appl Physiol* 1995; 79: 1278-1285.
8. Dvorak HF. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. *J Clin Oncol* 2002; 20: 368-380.
9. Dvorak HF. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. *J Clin Oncol* 2002; 20: 368-380.

10. Vila V, Martínez-Sales V, Almenar L, et al. Inflammation, endothelial dysfunction and angiogenesis markers in chronic heart failure patients. *Int J Cardiol* 2008; 130 (2): 276-277.
11. Ylä-Herttua S, Rissanen TT, Vajanto I, et al. Vascular endothelial growth factors biology and current status of clinical applications in cardiovascular medicine. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49: 1015-1026.
12. Casals G, Ros J, Sionis A, et al. Hypoxia induces b-type natriuretic peptide release in cell lines derived from human cardiomyocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 297 (2): 550-555.
13. Lee SH, Wolf PL, Escudero R, et al. Early expression of angiogenesis factors in acute myocardial ischemia and infarction. *N Engl J Med* 2000; 343 (2): 148-149.
14. George J, Patal S, Wexler D, et al. Circulating erythropoietin levels and prognosis in patients with congestive heart failure: comparison with neurohormonal and inflammatory markers. *Arch Intern Med* 2005; 165: 1304-1309.
15. Namiuchi S, Kagaya Y, Ohta J, et al. High serum erythropoietin level is associated with smaller infarct size in patients with acute myocardial infarction who undergo successful primary percutaneous coronary intervention. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45 (9): 1406-1412.
16. Zhu BL, Tanaka S, Ishikawa T, et al. Forensic pathological investigation of myocardial hypoxia-inducible factor-1 alpha, erythropoietin and vascular endothelial growth factor in cardiac death. *Leg Med (Tokyo)* 2008; 10 (1): 11-19.



## Komentarz

dr hab. med. Michał Mączewski

Zakład Fizjologii Klinicznej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

### NIEDOTLENIE I STAN ZAPALNY – TAKŻE W KARDIOLOGII

Autorzy pracy *Niedotlenienie a stan zapalny* [1] przedstawiają rolę układu hydrolaz reszt proliny (PHD) i czynnika transkrypcji indukowanego niedotlenieniem (HIF) jako łącznika między niedotlenieniem a stanem zapalnym, podkreślając jego znaczenie przede wszystkim w rozwoju nowotworów złośliwych i przewlekłych chorób zapalnych. Autorzy stwierdzają, że badania – zwłaszcza w onkologii – dostarczają argumentów zarówno za korzystnym, jak i niekorzystnym wpływem aktywacji HIF. Ostatnio układ PHD-HIF jest także przedmiotem intensywnych badań w kardiologii, z których wyłania się podobny obraz.

Przy małym stężeniu tlenu dochodzi do nagromadzenia w komórce HIF-1 $\alpha$ , który tworzy dimery z HIF-1 $\beta$  i aktywuje wiele genów odpowiedzialnych za adaptację komórki do hipoksji. Z kolei w warunkach prawidłowego stężenia tlenu w komórce PHD hydroksyluje HIF-1 $\alpha$  (ta reakcja enzymatyczna wymaga tlenu), który jest następnie degradowany w proteasomach. W ten sposób PHD jest wewnątrzkomórkowym czujnikiem tlenu regulującym aktywność HIF.

Jak można oczekiwać na podstawie powyższego schematu, w niedokrwionym mięśniu sercowym aktywność PHD spada, co prowadzi do nagromadzenia HIF.

Wykazano, że myszy z genetycznie uwarunkowaną inaktywacją PHD rozwijają ultrastrukturalne, histolo-

giczne i czynnościowe zmiany przypominające kardiomiopatię niedokrwinną. Podobnie długotrwała ekspresja stabilnej odmiany HIF-1 w kardiomiocytach także prowadzi do rozwoju kardiomiopatii niedokrwiennej [2]. Jeśli ta obserwacja potwierdzi się u ludzi, mogłoby to tłumaczyć postępującą utratę kurczliwości w przewlekle niedokrwionych obszarach. Być może przynajmniej część korzyści z rewaskularyzacji w takim kontekście da się wytłumaczyć odbudową aktywności PHD, co w konsekwencji zapobiega przewlekłej nadmiernej aktywności HIF i jej szkodliwym działaniom.

Dlaczego przewlekła aktywacja HIF może być szkodliwa dla serca? Otóż HIF aktywuje wiele genów, co skutkuje m.in. zaburzeniami metabolicznymi, niekontrolowaną angiogenezą i zwiększoną utratą mitochondriów. Być może jeden z tych czynników przyczynia się do szkodliwej przewlekłej aktywacji HIF w sercu.

W innym modelu, po zawale u myszy z obniżoną aktywnością HIF-1 $\alpha$  w leukocytach, stwierdzono mniejszy naciek leukocytny w obszarze martwiczym po zawale serca, co 4 tygodnie po zawale przekładało się na lepszą funkcję lewej komory [3]. To pokazuje, że dla serca szkodliwa może być także aktywacja HIF w innych tkankach.

Z drugiej strony natomiast wykazano, że HIF-1 odgrywa korzystną rolę w procesie hartowania niedokrwieniem, w którym krótkie, kilkuminutowe epizody



niedokrwienia i reperfuzji poprzedzające długotrwałe niedokrwienie w nie do końca poznanym mechanizmie uodparniają serce na konsekwencje długotrwałego niedokrwienia lub reperfuzji. Wykazano, że w modelu mysim dochodzi do stabilizacji HIF-1 $\alpha$  podczas krótkich hartujących epizodów niedokrwienia, a zahamowanie HIF-1 $\alpha$  prowadzi do utraty efektu hartowania. Wreszcie inhibitor PHD, zwiększający stabilność HIF-1 $\alpha$ , podany przed niedokrwieniem i reperfuzją wywierał korzystne działanie, m.in. zmniejszając obszar zawału [4], naśladując w pełni efekty hartowania niedokrwieniem.

Z tych badań wyłania się następujący obraz: krótkotrwała aktywacja HIF może odgrywać korzystną rolę w sercu, hartując je, natomiast przeciwnie, długotrwała aktywacja tego czynnika może działać niekorzystnie, prowadząc do rozwoju niewydolności serca.

Artykuł redakcyjny i wspomniane wyżej prace z dziedziny kardiologii eksperymentalnej wskazują na ważną

rolę, jaką odgrywa układ PHD-HIF w różnych chorobach. Dodatkowo pokazują, że musimy dogłębnie zrozumieć jego działanie przed podjęciem prób leczniczych, obejmujących ingerencję w jego działanie u ludzi.

## Piśmiennictwo

1. Eltzschig HK, Carmeliet P. Hypoxia and Inflammation. *N Engl J Med* 2011; 364: 656-665.
2. Moslehi J, Minamishima YA, Shi J, et al. Loss of Hypoxia-Inducible Factor Prolyl Hydroxylase Activity in Cardiomyocytes Phenocopies Ischemic Cardiomyopathy. *Circulation* 2010; 122: 1004-1016.
3. Dong F, Khalil M, Kiedrowski M, et al. Critical Role for Leukocyte Hypoxia Inducible Factor-1 {alpha} Expression in Post-Myocardial Infarction Left Ventricular Remodeling. *Circ Res* 2010; 106: 601-610.
4. Eckle T, Kohler D, Lehmann R, et al. Hypoxia-Inducible Factor-1 Is Central to Cardioprotection: A New Paradigm for Ischemic Preconditioning. *Circulation* 2008; 118: 166-175.