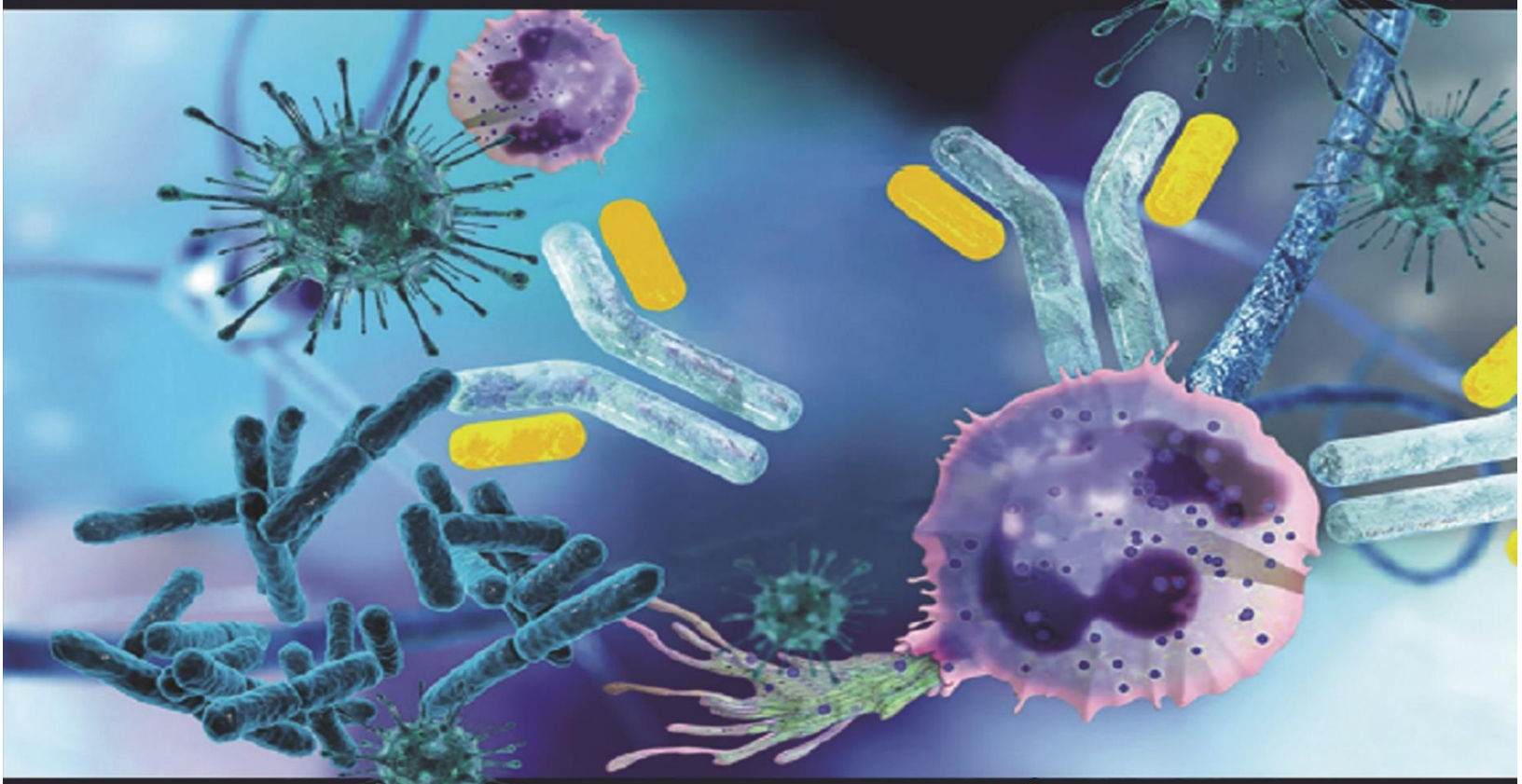
www.takbook.com

# نتوزیس
# ایمنی، پاتوژنز و درمان

ویرایش اول




نویسنده:
گیتا رای

مترجمان:
نادیا عابدی اومالی
(دانشجو دکتری فیزیولوژی جانوری)
پروین رامیان
(دانشجو دکتری فیزیولوژی جانوری)
فائقه بحری
(دانشجو دکتری بیوشیمی بالینی)
سروش طاهرخانی
(دانشجو دکتری فیزیولوژی پزشکی)

www.takbook.com


| | | |
|---|---|---|
| سرشناسه | : | رای، گیتا Rai, Geeta |
| عنوان و نام پدیدآور | : | نتوزیس ایمنی، پاتوژنز و درمان/ نویسنده گیتا رای؛ ترجمه نادیا عابدی‌اومالی... [و دیگران]. |
| مشخصات نشر | : | تهران: موسسه آموزشی تالیفی ارشدان، ۱۴۰۱. |
| مشخصات ظاهری | : | ۱۶۶ص.: مصور، جدول. |
| شابک | : | ۹۷۸-۶۲۲-۰۸-۵۰۷۷-۹ |
| وضعیت فهرست نویسی | : | فیپا |
| یادداشت | : | عنوان اصلی: Netosis : immunity, pathogenesis and therapeutics , [2019] |
| یادداشت | : | ترجمه نادیا عابدی‌اومالی، پروین رامیان، فائقه بحری، سروش طاهرخانی. |
| یادداشت | : | نمایه. |
| موضوع | : | مرگ سلولی<br>Cell death<br>نتوزیس<br>NETosis |
| شناسه افزوده | : | عابدی اومالی، نادیا، ۱۳۶۹-، مترجم |
| رده بندی کنگره | : | QH۶۷۱ |
| رده بندی دیویی | : | ۵۷۱/۹۳۶ |
| شماره کتابشناسی ملی | : | ۹۰۳۸۸۹۴ |
| اطلاعات رکورد کتابشناسی | : | فیپا |

ارشدان

مؤسسه آموزشی تألیفی ارشدان

| | |
|---|---|
| ■ نام کتاب: | **نتوزیس ایمنی، پاتوژنز و درمان** |
| ■ مترجمین: | **نادیا عابدی‌اومالی- پروین رامیان- فائقه بحری- سروش طاهرخانی** |
| ■ ناشر: | آموزشی تألیفی ارشدان |
| ■ ویرایش: | اول |
| ■ نوبت چاپ: | اول ۱۴۰۱ |
| ■ حروفچینی و صفحه آرایی: | www.irantypist.com |
| ■ طراح و گرافیست: | www.irantypist.com |
| ■ شابک: | ۹۷۸-۶۲۲-۰۸-۵۰۷۷-۹ |
| ■ شمارگان: | ۱۰۰۰ |
| ■ مرکز خرید آنلاین: | www.arshadan.com<br>www.arshadan.net |
| ■ مرکز پخش و توزیع: | ۰۲۱۴۷۶۲۵۵۰۰ |
| ■ قیمت: | ۸۰۰۰۰ تومان |

www.takbook.com

# نتوزیس ایمنی، پاتوژنز و درمان

**ترجمه:**

**نادیا عابدی اومالی**

**پروین رامیان**

**فائقه بحری**

**سروش طاهرخانی**

www.takbook.com

مؤسسه آموزشی تألیفی ارشدان

| | |
|---|---|
| ■ نام کتاب: | **نتوزیس ایمنی، پاتوژنز و درمان** |
| ■ مترجمین: | **نادیا عابدی‌اومالی- پروین رامیان- فائقه بحری- سروش طاهرخانی** |
| ■ ناشر: | آموزشی تألیفی ارشدان |
| ■ ویرایش: | اول |
| ■ نوبت چاپ: | اول ۱۴۰۱ |
| ■ حروفچینی و صفحه آرایی: | www.irantypist.com |
| ■ طراح و گرافیست: | www.irantypist.com |
| ■ شابک: | ۹۷۸-۶۲۲-۰۸-۵۰۷۷-۹ |
| ■ شمارگان: | ۱۰۰۰ |
| ■ مرکز خرید آنلاین: | www.arshadan.com<br>www.arshadan.net |
| ■ مرکز پخش و توزیع: | ۰۲۱۴۷۶۲۵۵۰۰ |
| ■ قیمت: | تومان |

www.takbook.com

**پیشگفتار ناشر:**

**به نام ایزد دانا که آغاز و انجام از آن اوست**

هرگز دل من ز علم محروم نشد کم ماند زاسرار که مفهوم نشد
اکنون که به چشم عقل در می نگرم معلومم شد که هیچ معلوم نشد

ای دانای بی‌همتا، ای بخشنده‌ای که ناخواسته عطا فرمایی و هر نیازمندی را به عدالت بی‌نیاز گردانی، مگر این‌که نالایق باشد و آن عنایت را به باژگونه از دست دهد. در عرصه پیشرفت تکنولوژی در هزاره سوم، هنوز نیاز بر مطالعه کتاب در کنار استفاده از منابع کامپیوتری و اینترنت احساس می‌شود. از این بابت خوشحالیم که می‌توانیم در جهت اعتلای علم، دانش و فرهنگ کشور قدمی هر چند کوچک برداریم.

**و من الله التوفیق**

**دکتر شمس الدین یوسفیان**

**مدیر مسئول انتشارات ارشدان**

www.takbook.com

www.takbook.com

## پیش‌گفتار مترجمان

کتاب پیش‌رو، ترجمه کامل از ویرایش اول **"نتوزیس ایمنی، پاتوژنز و درمان"** نوشته **«گیتا رای»** می‌باشد که درطی ۶ فصل به توضیح و بررسی فرآیند نِتوزیس، که از انواع مرگ سلولی می‌باشد، اعم از مکانیسم‌های سلولی مولکولی دخیل در این پدیده، ایمنی شناختی، آسیب‌زایی و در نهایت فاکتورهای مرتبط با شاخص‌های درمانی این فرآیند می‌پردازد. کتاب شامل تصاویر و جداولی نیز بوده که درکنار توضیح مطالب، به تفهیم و درک بهتر مطالب کمک می‌کند. امید است که ترجمه این کتاب توانسته باشد برای خوانندگان مفید واقع شده و برای دستیابی بهتر مخاطبین، به درک یکی از روش‌های مرگ سلولی در سیستم فیزیولوژیکی کمک کرده باشد. مسلماً ترجمه این کتاب نیز همانند سایر کتب ترجمه شده این حوزه بدون اِشکال و ایراد نبوده و خوانندگان در صورت برخورد با هرگونه مطلب که از زعم آن‌ها مورد پذیرش نمی‌باشد به مترجمین کتاب از طریق راه‌های ارتباطی در دسترس اطلاع دهند. هم‌چنین هرگونه نظر، ایده و ... که باعث بهتر شدن کتاب می‌گردد را نیز اعلام دارند تا در چاپ‌ها و ترجمه‌های بعد، برطرف و اعمال گردیده تا بهترین نسخه از کتاب برای خوانندگان در آینده ارائه گردد.

**با تشکر فراوان**

**مترجمان کتاب**

www.takbook.com

www.takbook.com

# فهرست مطالب

**عنوان** **صفحه**

## فصل اول: تشکیل تله خارج سلولی نوتروفیل


مقدمه ..... ۱۵
دو شکل مجزا از نتوزیس ..... ۱۶
نتوزیس کشنده ..... ۱۷
نتوزیس حیاتی ..... ۱۸
تفاوت بین نتوزیس کشنده و حیاتی ..... ۱۹
نتوزیس: توالی رویدادها ..... ۲۱
تشکیل NET از گونه‌های فعال اکسیژن تا تراکم کروماتین ..... ۲۱
تغییر هیستون در نتوزیس ..... ۲۳
مکانیسم پاک‌سازی بقایای NETotic ..... ۲۴
تنظیم نتوزیس ..... ۲۴
سایر سلول‌های دخیل در نتوزیس ..... ۲۷
بازوفیل‌ها ..... ۲۷
ائوزینوفیل‌ها ..... ۲۸
ماست سل‌ها ..... ۲۹
مونوسیت‌ها و ماکروفاژها ..... ۳۰


## فصل دوم: نتوزیس؛ مکانیسم‌ها و استراتژی‌های ضد میکروبی


نقش DNA و هیستون‌ها در آزادسازی تله خارج سلولی نوتروفیل ..... ۳۵
DNA در نتوزیس ..... ۳۵
فعالیت میکروب‌کشی DNA در تله‌های خارج سلولی نوتروفیل ..... ۳۵

www.takbook.com

پروتئین‌های اصلی دخیل در نتوزیس ۳۶
هیستون‌ها در تله خارج سلولی نوتروفیل ۳۷
هیستون‌ها به عنوان الگوهای مولکولی مرتبط با آسیب ۳۷
گونه‌های فعال اکسیژن به عنوان عامل کلیدی در نتوزیس ۳۸
کینازهای چرخه سلولی در نتوزیس وابسته به گونه‌های اکسیژن فعال ۴۰
نتوزیس مستقل از گونه‌های اکسیژن فعال ۴۰
مسیرهای سیگنال‌دهی دخیل در نتوزیس ۴۱
مسیر سیگنالینگ Rac2 ۴۱
مسیر سیگنالینگ Raf/MEK/ERK ۴۳
مسیر Pl3K/AKT/mTOR ۴۴
سایر کینازهای دخیل در سیگنال‌دهی تله خارج سلولی نوتروفیل ۴۵
استراتژی‌های ضد میکروبی تله‌های خارج سلولی نوتروفیل ۴۵
باکتری ۴۷
استافیلوکوکوس اورئوس ۴۷
استرپتوکوک پنومونیه ۴۸
اشرشیاکلی ۴۹
کلستریدیوم دیفیسیل ۴۹
شیگلا فلکسنری ۵۰
سالمونلا تیفیموریوم ۵۰
یرسینیا انتروکولیتیکا ۵۱
مایکوباکتریوم توبرکلوزیس ۵۱
ویبریوکلرا ۵۲

www.takbook.com

لاکتوباسیلوس رامنوسوس ..... ۵۳
ویروس ..... ۵۳
آنفولانزا ..... ۵۳
ویروس دنگی (DENV) ..... ۵۴
ویروس نقص ایمنی انسانی ۱ ..... ۵۴
ویروس سینسیشال تنفسی ..... ۵۵
قارچ‌ها ..... ۵۵
کاندیدا آلبیکنس ..... ۵۵
آسپرژیلوس فومیگاتوس ..... ۵۶
کریپتوکوکوس spp ..... ۵۶
انگل‌ها ..... ۵۷
پلاسمودیوم فالسیپاروم ..... ۵۷
توکسوپلاسما گوندی ..... ۵۷
نتوزیس و سایتوکاین‌ها ..... ۵۸

## فصل سوم: عوامل تنظیم‌کننده نتوزیس

اتوفاژی در نتوزیس ..... ۶۱
محرک‌های اتوفاژیک مختلف نتوزیس را القا می‌کنند ..... ۶۲
آنتی بادی‌های سیتوپلاسمی ضد نوتروفیل ..... ۶۲
فوربول میریستات استات ..... ۶۳
فرمیل- متیونیل- لوسیل- فنیل آلانین مشتق از باکتری ..... ۶۳
لیپو پلیساکارید ..... ۶۳
مولکول‌های مرتبط با اتوفاژی در نتوزیس ..... ۶۴

www.takbook.com

تراکمزدایی کروماتین ناشی از PMA به فعالیت NOX2 در نتوزیس نیاز دارد..... ۶۴
تأثیر مهار اتوفاژی بر نتوزیس..... ۶۷
نقش گیرنده‌های Toll مانند در اتوفاژی..... ۶۷
دخالت اتوفاژی در تشکیل تله خارج سلولی نوتروفیل در طول عفونت قارچی..... ۶۸
آپوپتوزیس در نتوزیس..... ۶۸
آپونتوزیس..... ۷۰
مولکول‌ها در سطح مشترک آپوپتوز و نتوزیس..... ۷۰
جذب فاگوسیتوزی: آپوپتوز در مقابل نتوزیس..... ۷۲
نکروز در نتوزیس..... ۷۳
پاسخ به نکروز..... ۷۴
مورفولوژی نوتروفیل‌های نکروتیک..... ۷۴
محرک‌های مختلف برای القای تله خارج سلولی نوتروفیل (NET)..... ۷۵
میکروکریستال‌ها..... ۷۶
کریستال‌های اورات مونوسدیم..... ۷۷
بلورهای کلسیم پیروفسفات دی هیدرات (CPPD)..... ۸۰
زاج (آلوم)..... ۸۰
کریستال‌های کلسترول..... ۸۱
کریستال سیلیس..... ۸۱
نانو ذرات..... ۸۲
تشکیل NET در شرایط هایپوکسیک..... ۸۴
اثرات سلولی هایپوکسی..... ۸۵
هایپوکسی باعث افزایش NETosis می‌شود..... ۸۷

www.takbook.com

نقش pH در القای تله خارج سلولی نوتروفیل..... ۸۸

## فصل چهارم: نتوزیس در نوزادان

فعالیت نوتروفیل‌ها در دوران بارداری و در نوزادان..... ۹۲
تخریب و تاخیر نتوزیس در نوزادان تازه متولد شده..... ۹۶
تنظیم تله خارج سلولی نوتروفیل متفاوت در نوزادان وجود دارد..... ۹۷
کالپروتکتین با تله خارج سلولی نوتروفیل در نوزادان مرتبط است..... ۹۷
مهارکننده‌های فعالیت تله خارج سلولی نوتروفیل در نوزادان..... ۹۸
مسیر مستقل از گونه‌های اکسیژن فعال در نوزادان..... ۹۹
تنظیم متفاوت اجزای تله‌های خارج سلولی نوتروفیل در نوزادان..... ۱۰۰

## فصل پنجم: نتوزیس در خود ایمنی

نتوزیس در آرتریت روماتوئید..... ۱۰۵
پاتوژنز آرتریت ریوماتوئید..... ۱۰۵
نتوزیس به عنوان منبعی از آنتی‌ژن‌های خودی در آرتریت روماتوئید..... ۱۰۶
هیستون‌های سیترولینه در نوتروفیل‌های آرتریت روماتوئید..... ۱۰۹
هیستون‌های سیترولینه به عنوان آنتی‌ژن در آرتریت روماتوئید..... ۱۱۱
ساختارهای لنفوئیدی سلول‌های اپی تلیال به عنوان منبع آنتی‌بادی‌های ضد تله خارج سلولی نوتروفیل‌ها در آرتریت روماتوئید..... ۱۱۳
نقش نتوزیس در تولید DNA بدون سلول در آرتریت روماتوئید..... ۱۱۴
درمان‌های مبتنی بر تعدیل نتوزیس در آرتریت روماتوئید..... ۱۱۵
نتوزیس در لوپوس اریتماتوز سیستمیک..... ۱۱۵
اجزای تله خارج سلولی نوتروفیل‌ها در لوپوس اریتماتوی سیستمیک..... ۱۱۵
نقش DNase I..... ۱۱۶

www.takbook.com

تله‌های خارج سلولی نوتروفیل سلول‌های دندریتیک پلاسماسیتوئید را به سمت تولید اینترفرون نوع ۱ در لوپوس اریتماتوز سیستمیک هدایت می‌کنند ..... ۱۱۸

تله‌های خارج سلولی نوتروفیل واسطه فعالیت التهابی افزایش‌یافته در لوپوس اریتماتوز سیستمیک..... ۱۱۹

تخریب تله خارج سلولی نوتروفیل در لوپوس اریتماتوز سیستمیک..... ۱۲۰

تله خارج سلولی نوتروفیل‌ها نقش حفاظتی در لوپوس اریتماتوی سیستمیک ناشی از دارو دارد..... ۱۲۱

نقش DNA میتوکندریایی در تله خارج سلولی نوتروفیل در لوپوس اریتماتوسیستمیک ..... ۱۲۲

درمان مبتنی بر تله خارج سلولی نیوتونی در تله‌های خارج سلولی نوتروفیل..... ۱۲۲

اثر سلول‌های B که داروها را در نتوزیس مهار می‌کنند..... ۱۲۳

تله‌های خارج سلولی نوتروفیل‌ها در مالتیپل اسکلروزیس..... ۱۲۳

سطوح بالاتر گردش تله‌های خارج سلولی نوتروفیل در سرم بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس عود کننده - بهبود یابنده..... ۱۲۴

تله خارج سلولی نوتروفیل‌ها، تفاوت جنسیتی خاصی را در پاتوژنز بیماری مالتیپل اسکلروزیس نشان می‌دهد..... ۱۲۶

## فصل ششم: نتوزیس در سایر بیماری‌ها و رویکردهای درمانی

نتوزیس در سیستیک فیبروزیس..... ۱۳۰

نقش آنتی میکروبی تله خارج سلولی در سیستیک فیبروزیس..... ۱۳۱

نقش پاتوفیزیولوژی تله خارج سلولی نوتروفیلی در سیستیک فیبروزیس..... ۱۳۲

سرنوشت‌های دیگر نوتروفیل‌ها در سیستیک فیبروزیس ریوی..... ۱۳۳

گزینه‌های درمانی مبتنی بر تله خارج سلولی نوتروفیلی در فیبروز سیستیک..... ۱۳۳

نتوزیس در دیابت ملیتوس..... ۱۳۵

www.takbook.com

نتوزیس به شدت در بهبود زخم در دیابت اختلال ایجاد می‌کند ۱۳۷
درمان تله خارج سلولی آنتی نوتروفیلی در دیابت ملیتوس ۱۳۷
نتوزیس در بیماری قلبی متابولیک ۱۳۸
افزایش پپتیدیل‌آرژینین دیمیناز ۴ و فعال‌سازی تله خارج سلولی نوتروفیلی در آترواسکلروز ۱۳۹
درمان مبتنی بر نتوزیس ۱۴۰
نتوزیس در سرطان ۱۴۰
عواقب تله خارج سلولی نوتروفیلی در سرطان ۱۴۲
هدف‌گیری درمانی تله خارج سلولی نوتروفیلی در افراد مبتلا به سرطان ۱۴۲
تله خارج سلولی نوتروفیلی در بیماری آلزایمر ۱۴۳
دو نوع نتوزیس در بیماری آلزایمر: نتوزیس داخل عروقی و داخل پارانشیمی ۱۴۴
نتوزیس داخل عروقی ۱۴۴
نتوزیس داخل پارانشیمی ۱۴۶
رویکردهای درمانی مبتنی بر تله خارج سلولی نوتروفیلی در بیماری آلزایمر ۱۴۷
نتوزیس در نقرس ۱۴۸
ایمونولوژی پاسخ التهابی حاد در نقرس ۱۴۸
کریستال‌های MSU از طریق یک مسیر مولکولی مجزا باعث ایجاد تله خارج سلولی نوتروفیلی می‌شوند ۱۴۹
نقرس کاذب و القای نکروپتوز ۱۴۹
اهداف درمانی مبتنی بر تله خارج سلولی نوتروفیلی در نقرس ۱۵۰
نتوزیس در پانکراتیت ۱۵۱
گزینه‌های درمانی مبتنی بر تله خارج سلولی نوتروفیلی در پانکراتیت ۱۵۲

www.takbook.com

نتوزیس در بیماری‌های عفونی..... ۱۵۵
بیماری‌های باکتریایی..... ۱۵۵
بیماری‌های قارچی..... ۱۵۶
بیماری‌های انگلی..... ۱۵۶
بیماری‌های ویروسی..... ۱۵۷
تشکیل تله خارج سلولی نوتروفیلی در شرایط آزمایشگاهی: تکنیک‌های اندازه‌گیری... ۱۵۸
**لیست اختصارات ..... ۱۶۱**

www.takbook.com

# فصل اول:

## تشکیل تله خارج سلولی نوتروفیل

### مقدمه

نوتروفیل‌ها سلول‌های ایمنی هستند که با یک هسته لوبوله مشخص می‌شوند و آن‌ها را سلول‌های پلی‌مورفونوکلئر (PMNs) می‌نامند. به دلیل فراوانی گرانول در سیتوپلاسم آن‌ها و رنگ‌آمیزی آن‌ها با رنگ‌های خنثی، پل ارلیش اولین بار در قرن نوزدهم این سلول‌ها را نوتروفیل نامید. هنگامی که سیستم ایمنی بدن تحت چالش عوامل بیماری‌زا قرار می‌گیرد، نوتروفیل‌ها اولین سلول‌هایی هستند که از گردش خون خارج شده و به ناحیه مورد حمله منتقل می‌شوند. نوتروفیل‌ها از طریق فعالیت ضد میکروبی خود، میکروب‌ها را می‌کشند، با آزاد کردن مولکول‌های سیگنال‌دهنده کوچک، وضعیت آسیب را به سایر سلول‌های ایمنی منتقل می‌کنند و بهبودی را آغاز می‌کنند. با داشتن زرادخانه‌ای از پروتئین‌های ضد میکروبی قوی، نوتروفیل‌ها فاگوسیت‌های حرفه‌ای هستند که همراه با تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، میکروب‌های داخل فاگوزوم را از بین می‌برند. از طریق «دگرانولاسیون»، این پروتئین‌های ضد میکروبی نیز آزاد می‌شوند. نوتروفیل‌ها با داشتن آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر که عمدتاً در گرانول‌های تخصصی ذخیره می‌شوند، فراوان‌ترین سلول‌های عامل ایمنی ذاتی

www.takbook.com



سیستم ایمنی انسان هستند. سومین مکانیسم ضد میکروبی آزادسازی تله‌های خارج سلولی نوتروفیل (NETها) است. اولین بار توسط تاکی و همکاران (۱۹۹۶) به عنوان یک شکل منحصر به فرد از مرگ سلولی مورد توجه قرار گرفت، که متمایز از نوتروفیل‌های نکروز یا آپوپتوزیس، باکتری‌ها را با تشکیل ساختارهای خارج سلولی به نام NETها از بین می‌برد، که عمدتاً از DNA، هیستون‌ها و پروتئازها، مانند نوتروفیل الاستاز (NE) تشکیل شده‌اند. این فرآیند بیشتر مورد مطالعه قرار گرفت و در سال ۲۰۰۴ به عنوان NETosis (نتوزیس) نامیده شد. در نتوزیس، نوتروفیل‌ها با القای حسگرهای ایمنی ذاتی با آنتی‌ژن‌های بیماری‌زا، مقادیر زیادی کروماتین و پروتئین‌های گرانول مانند NE و میلوپراکسیداز (MPO) را خارج می‌کنند که میکروارگانیسم‌ها را به دام می‌اندازند و می‌کشند. NETها حاوی میکروارگانیسم مهاجم برای جلوگیری از گسترش عفونت هستند و از زرادخانه بسیار موضعی پپتیدهای ضد میکروبی خود برای خنثی کردن و از بین بردن میکروارگانیسم استفاده می‌کنند. زرادخانه نوتروفیل با توانایی خود برای آسیب رساندن به بافت میزبان، خود را به شیوه‌ای کاملاً تنظیم شده در حین انتشار NETها مستقر می‌کند.

## دو شکل مجزا از نتوزیس

فرآیند فعلی انتشار NET از یک رویکرد دو وجهی پیروی می‌کند. بر اساس مدل اول، نتوزیس یک مسیر مرگ سلولی ناشی از تراکم کروماتین، تجزیه هسته‌ای و غشای سیتوپلاسمی است که با بیرون راندن کروماتین و محتویات دانه‌ای به فضای خارج سلولی انجام می‌شود. برخلاف سلول‌های آپوپتوزیس، به نظر نمی‌رسد نوتروفیل‌هایی که تحت نتوزیس قرار می‌گیرند، سیگنال‌های فسفاتیدیل سرین و سایر سیگنال‌های «مرا بخور» را نشان نمی‌دهند، که ممکن است از پاک‌سازی بی‌صدای آن‌ها توسط فاگوسیت‌ها جلوگیری کند. جداسازی NET عمدتاً توسط نوکلئازها انجام می‌شود.

مدل دوم شامل بیرون راندن پروتئازهای DNA/سرین از نوتروفیل‌های سالم و هم‌چنین آزادسازی DNA میتوکندری است که با فعال کردن التهاب عمل می‌کند و ظاهراً با مرگ سلولی مرتبط نیست. علاوه بر این موارد، اتوفاژی نیز ممکن است به نتوزیس کمک کند.

www.takbook.com

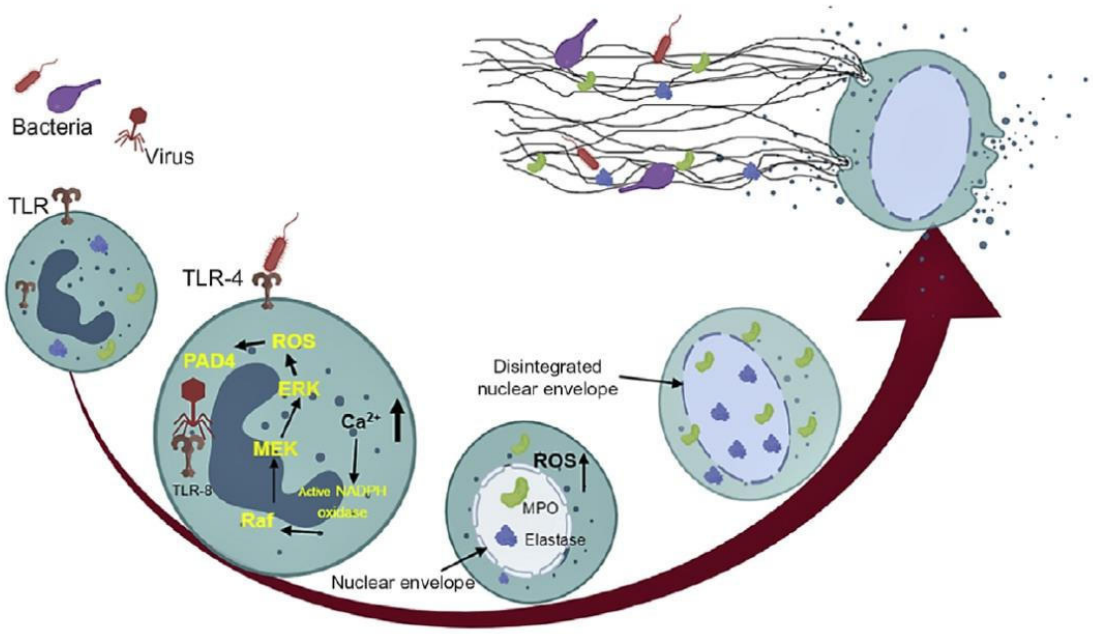


## نتوزیس کشنده

نتوزیس کشنده متعارف با درگیر شدن گیرنده‌های IgG- Fe، گیرنده‌های Toll مانند، مکمل یا سایتوکاین‌ها بر روی نوتروفیل‌ها ایجاد می‌شود. این گیرنده‌ها پس از فعال شدن، توالی پایین دست را آغاز می‌کنند، که در آن کلسیم جدا شده در شبکه آندوپلاسمی به صورت یون کلسیم در سیتوپلاسم آزاد می‌شود (شکل ۱-۱). این افزایش سطح کلسیم در سیتوپلاسم باعث افزایش فعالیت پروتئین کیناز C (PKC) و فسفوریلاسیون gp9lphox، زیرواحد اتصال همی NADPH اکسیداز مولد سوپراکسید می‌شود. این امر تجمع زیر واحدهای NADPH اکسیداز را در سیتوزول آغاز می‌کند و به غشاء درون کمپلکس‌های عملکردی در غشاهای سیتوپلاسمی یا فاگوزومی (هم‌چنین اکسیداز فاگوسیتیک، PHOX نیز نامیده می‌شود) و تولید متوالی ROS متصل می‌شود. ROS باعث پارگی گرانول‌ها و پوشش هسته می‌شود و در نهایت آمیختگی محتویات هسته‌ای، دانه‌ای و سیتوپلاسمی آزاد شده رخ می‌دهد. NE (یک پروتئاز سرین با ویژگی وسیع) و MPO (آنزیم‌های پراکسیداز که اسیدهای هیپوهالو ضد میکروبی تولید می‌کنند) که معمولاً در گرانول‌های آزوروفیل ذخیره می‌شوند، به سمت هسته حرکت می‌کنند. متعاقباً، NE هیستون پیونددهنده Hl را تجزیه می‌کند و هیستون‌های هسته و MPO را پردازش می‌کند که تراکم‌زدایی کروماتین را افزایش می‌دهد و باعث آزاد شدن تله‌های خارج سلولی (ETها) می‌شود. NE هم‌چنین اسکلت سلولی اکتین را تخریب می‌کند و فاگوسیتوز نوتروفیل‌ها را مسدود می‌کند. آنزیم مهم دیگر، پپتیدیل آرژنین دیمیناز نوع ۴ (PAD4)، باعث دآمیناسیون هیستون‌ها می‌شود و شکاف پروتئولیتیک آن‌ها قبل از تجزیه هسته‌ای شروع می‌شود و علاوه بر آن به تراکم‌زدایی کروماتین کمک می‌کند. تجزیه غشای پلاسمایی NETها و پاتوژن‌های به دام افتاده NET را آزاد می‌کند و منجر به مرگ سلولی با از دست دادن عملکردهای سلولی زنده مانند انتقال و فاگوسیتوز می‌شود که به عنوان خودکشی مفید نیز شناخته می‌شود.

www.takbook.com






**شکل ۱-۱. نتوزیس کشنده. القاگر /محرک به گیرنده‌های درون‌زا و اگزوژن متصل می‌شود. فعال شدن مسیر کیناز Raf/MEK/ERK که منجر به افزایش کلسیم سیتوزولی می‌شود منجر به فسفوریلاسیون پروتئین gp91phox می‌شود. این کمپلکس اکسیداز NADPH را فعال می‌کند و متعاقباً گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) تولید می‌کند. الاستاز و میلوپراکسیداز سپس به هسته تحریک شده توسط ROS و سایر عوامل هنوز ناشناخته منتقل می‌شوند. کروماتین متراکم می‌شود که منجر به از بین رفتن شکل لوبولار هسته می‌شود. از دست دادن پوشش هسته‌ای و غشای دانه‌ای رخ می‌دهد و کروماتین تغلیظ شده با اجزای سیتوپلاسمی مرتبط است. غشای پلاسمایی از بین می‌رود و DNA به عنوان تله خارج سلولی آزاد می‌شود.**

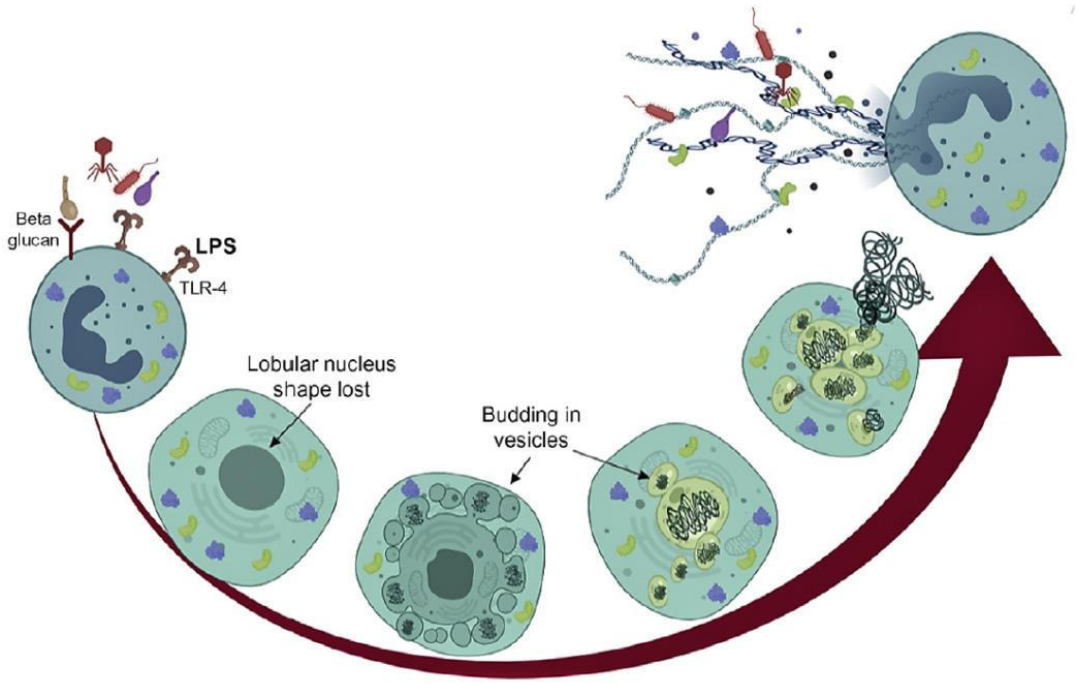
## نتوزیس حیاتی

بر خلاف شکل معمول نتوزیس، کلارک و همکاران (۲۰۰۷) در یک آزمایش مستقیم گزارش دادند که آزادسازی NEها از نوتروفیل‌ها بدون نفوذ رنگ‌آمیزی DNA داخل سلولی SYTOX Green ادامه یافت و بر این واقعیت تأکید کردند که نوتروفیل‌ها از نظر ساختاری سالم باقی می‌مانند. این شواهدی برای اولین مسیر جایگزین نتوزیس بود و نویسندگان اصطلاح نتوسیس حیاتی را برای ارجاع به آن ابداع کردند (شکل ۱-۲). این کار بیشتر توسط تصاویر میکروسکوپ الکترونی NET های القا شده توسط استافیلوکوکوس اورئوس که با حباب زدن پوشش هسته‌ای و صدور ویزیکولار در شرایط آزمایشگاهی و درون بدن موجود زنده تشکیل می‌شوند، پشتیبانی شد. مکانیسم مشابهی، مانند انتشار DNA میتوکندری بدون پارگی سلول لیتیک، برای اولین بار توسط یوسفی و همکاران در ائوزینوفیل‌ها، اما

www.takbook.com



متعاقباً در نوتروفیل‌ها گزارش شده است. برخلاف این، یک گزارش جدید تشکیل تله خارج سلولی ائوزینوفیل (EET) را که منجر به آزادسازی دانه‌ای سایتولیتیک می‌شود، توصیف کرد. بنابراین، گرانولوسیت‌ها، به طور کلی، ممکن است هر دو مسیر لایتیک و غیر لایتیک نتوزیس را داشته باشند.




**شکل ۱-۲. نتوزیس حیاتی. محرک‌ها توسط گیرنده‌های روی سطح سلول شناسایی می‌شوند. شکل لوبولار و چند هسته‌ای هسته از بین می‌رود. غشاهای هسته‌ای خارجی و داخلی از بین می‌روند و جوانه زدن وزیکول‌ها انجام می‌شود. رشته‌های مروارید از رشته‌های DNA در داخل وزیکول‌های سیتوپلاسم تشکیل می‌شوند، گرانول‌های سیتوپلاسمی متراکم به سمت غشای پلاسمایی سالم نزدیک می‌شوند. DNA به عنوان تله‌های خارج سلولی از طریق یک منطقه کوچک در سطح سلول آزاد می‌شود. برخی از گرانول‌های سیتوپلاسمی نیز با غشای پلاسمایی ترکیب می‌شوند که به فضای خارج سلولی رها می‌شود تا با DNA مرتبط شود.**

## تفاوت بین نتوزیس کشنده و حیاتی

تفاوت‌های اصلی بین نتوزیس کشنده و نتوزیس حیاتی به ماهیت محرک‌های تحریک کننده و مکانیسم برنامه‌ریزی انتشار NET بستگی دارد و برای تشکیل تله خارج سلولی به ساعت‌ها تحریک نیاز دارد. به عنوان مثال، نتوزیس کشنده عمدتاً در زمینه تحریک شیمیایی ناشی از فوربول ۱۲- میریستات-۱۳- استات (PMA) ایجاد شده است و به ساعت‌ها نیاز دارد. در مقابل، نتوزیس حیاتی نشان داده شده است که توسط الگوهای مولکولی خاص میکروبی به

www.takbook.com



نام الگوهای مولکولی مرتبط با پاتوژن (PAMPs) یا الگوهای مولکولی مرتبط با آسیب درون‌زا (DAMPs) که توسط گیرنده‌های تشخیص الگوی میزبان شناسایی می‌شوند، فعال می‌شود. یکی از این PAMPها، لیپو پلی‌ساکارید باکتریایی (LPS)، یک محرک باکتریایی گرم منفی است که باعث آزادسازی سریع NET بدون دخالت تجزیه سلولی می‌شود و دقیقاً توسط گیرنده شبه ۴ (TLR4) در پلاکت‌ها واسطه می‌شود که به فعال شدن نوتروفیل‌ها کمک می‌کند. بعلاوه، اجرای مسیر حیاتی نتوزیس دارای تمام نشانه‌های این است که یک واکنش خلاصه در برابر کلاس‌های مختلف پاتوژن‌های میکروبی باشد. به همین ترتیب، استافیلوکوکوس اورئوس نوتروفیل‌های انسانی را وادار می‌کند تا NETها را به‌سرعت با استفاده از حباب‌های هسته‌ای و خروج وزیکولار تخلیه کنند، به این ترتیب یکپارچگی غشای پلاسمایی PMN حفظ می‌شود. در شرایط درون بدن موجود زنده، TLR-2 و مکمل واسطه انتشار سریع NETها به دنبال عفونت توسط باکتری‌های گرم مثبت زنده هستند. علاوه بر این، گزارش‌های اخیر نشان می‌دهد که نتوسیس در واقع به سرعت در عرض ۳۰ دقیقه پس از تحریک با کاندیدا آلبیکنس به روشی وابسته به فیبرونکتین و مکمل اتفاق می‌افتد. دومین تضاد مهم بین نتوزیس حیاتی و نتوزیس کشنده معمولی با ظرفیت کاری نوتروفیل‌ها در طول انتشار NET متفاوت است. همان‌طور که در یافته‌های اولیه آزمایشگاهی گزارش شد، نتوزیس ناشی از میکروب، نوتروفیل‌ها را از تجزیه آزاد کرد و ظرفیت عملکردی نوتروفیل‌های نتوزیس کننده را حفظ کرد. کولاکوسکا و همکاران (۲۰۱۵) در آزمایشگاه خود از میکروسکوپ کانفوکال در طی حیات برای توسعه روشی برای تجسم مستقیم نتوزیس در مدل موش عفونت پوستی باکتریایی استفاده کردند. آن‌ها نشان دادند که در داخل پوست، نوتروفیل‌ها به سرعت NETها را در مسیری با واسطه TLR-2 و مکمل خارج می‌کنند و در عین حال مهارت باکتری‌های زنده را کاهش می‌دهند و فاگوسیتوز می‌کنند. در میان واکنش حاد زمینه‌ای، تجزیه PMN و هم تایید مرگ سلولی مشخص نبود. در هر صورت، نوتروفیل‌های نتوزیس کننده به سمت تبدیل شدن به سیتوپلاست‌های هسته‌ای مناسب برای تعقیب و نگهداری استافیلوکوک زنده پیشرفت کردند.

سومین تمایز اساسی بین نتوزیس کشنده و نتوزیس حیاتی از اجزای مورد استفاده برای ساخت و تخلیه NET تشکیل شده است. نتوزیس کشنده به تحریک PMA از Raf-MEK-ERK و در نتیجه فعال شدن NADPH اکسیداز نیاز دارد. تراکم‌زدایی کروماتین توسط

www.takbook.com



MPO و الاستاز که در مخلوطی از DNA و پروتئین‌های گرانول ایجاد می‌شود که از سوراخی در غشای پلاسمایی خارج می‌شوند، تسهیل می‌شود. در مقایسه، نتوزیس حیاتی نیازمند انتقال DNA در داخل وزیکول‌ها از هسته به فضای خارج سلولی است.

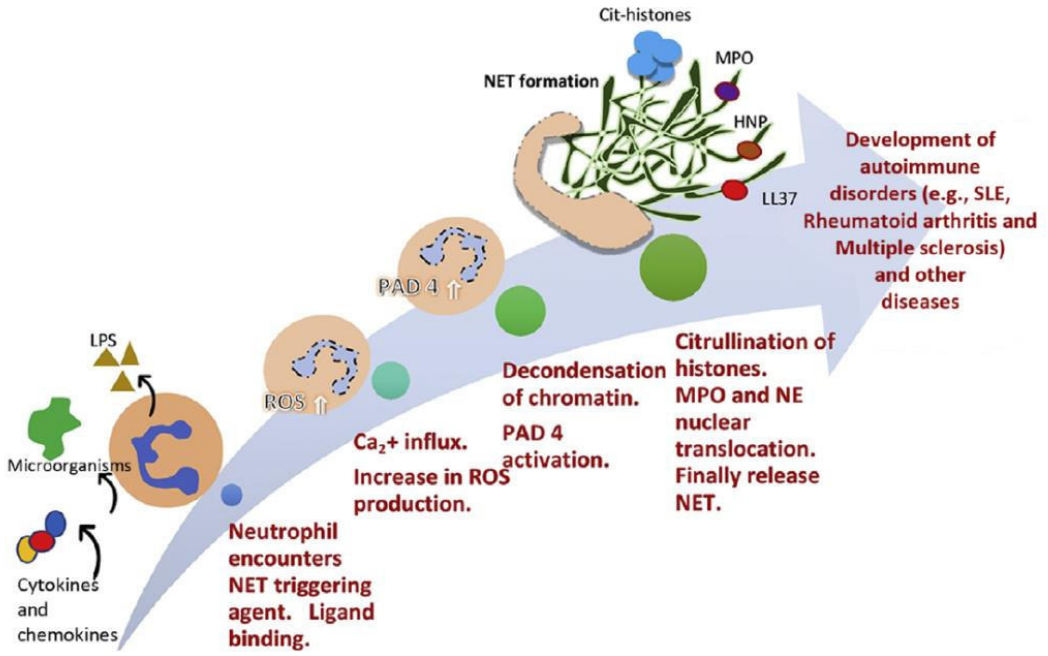
## نتوزیس: توالی رویدادها

### تشکیل NET از گونه‌های فعال اکسیژن تا تراکم کروماتین

مسیر نتوزیس با واسطه ROS به دو آنزیم نیاز دارد. NADPH اکسیداز که ROS تولید می‌کند و MPO را تحریک می‌کند، فعال‌سازی و انتقال NE را در گرانول‌های آزوروفیل به هسته آغاز می‌کند، که در آن بسته‌بندی کروماتین با برش پروتئولیتیک هیستون‌ها توسط NE مختل می‌شود (شکل ۱-۳). این به MPO اجازه می‌دهد تا به کروماتین متصل شود و به NE در تراکم‌زدایی کروماتین مستقل از آنزیم کمک می‌کند. با این حال، فعالیت NADPH اکسیداز منحصر به فرد نیست، زیرا ROS میتوکندری تولید شده توسط کمپلکس‌های ایمنی برای ایجاد نتوزیس کافی است. گرانول‌های آزوروفیل NE را بدون پارگی یا هم‌جوشی غشاء آزاد می‌کنند. این توسط آزوروسوم، یک کمپلکس در نوتروفیل‌های در حال استراحت که غشاهای گرانول را پوشانده است، انجام می‌شود که در آن کسری از MPO به NE متصل می‌شود. پراکسید هیدروژن به طور انتخابی NE را به روشی وابسته به MPG در سیتوزول آزاد می‌کند.

www.takbook.com






**شکل ۱-۳. توالی رویدادها در نتوزیس. با مواجهه با لیگاندهای محرک NET، نوتروفیل‌ها تحت افزایش هجوم کلسیم و تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) قرار می‌گیرند. این منجر به فعال شدن پروتئین آرژنین دیمیناز ۴ (PAD4) و متعاقب آن تراکم‌زدایی کروماتین به دلیل سیترولیناسیون هیستونی پروتئین‌های هسته‌ای انسانی (HNPs) می‌شود. علاوه بر این، میلوپراکسیداز (MPO) و نوتروفیل الاستاز (NE) به فرآیند تراکم‌زدایی کمک می‌کنند و در نهایت NETها را آزاد می‌کند. NETها بیشتر به توسعه بیماری‌های خود ایمنی و سایر آسیب‌شناسی‌ها کمک می‌کنند.**

مهار آنزیمی MPO آن‌طور که در آزمایشات مشهود است، نتوزیس را به تاخیر نمی‌اندازد، که احتمالاً به دلیل فعال شدن فعالیت پروتئولیتیک NE در برابر سوبستراهای پروتئینی بزرگ با واسطه MPO است. این فعال‌سازی اکسیداتیو اتصال NE به رشته‌های F-اکتین در سیتوپلاسم را تسهیل می‌کند و آن‌ها را به منظور ورود به هسته تجزیه می‌کند. اگرچه NE برای متراکم کردن هسته‌ها در شرایط آزمایشگاهی کافی است، جداسازی پوشش هسته‌ای در نوتروفیل‌ها ممکن است با مکانیسم‌های ناشناخته کمک شود. چندین محرک NET مانند قارچ‌ها و کریستال‌ها نیز این مسیر MPO-NE را القا می‌کنند. نقش آن بیشتر توسط مطالعات بر روی نوتروفیل‌ها از بیماران مبتلا به بیماری گرانولوماتوز مزمن (CGD) و با کمبود کامل MPO و هم‌چنین با مطالعاتی که بر روی موش‌های دارای کمبود NE انجام شده است، یا مهارکننده‌های NE در مدل‌های موشی سپسیس، سرطان و عفونت ریوی پشتیبانی می‌شود. موش‌های دارای کمبود اکسیداز NADPH هم‌چنین در طول عفونت

www.takbook.com



قارچی ریوی، انتشار NET لغو شده را نشان می‌دهند، که در غیر این صورت آزادسازی NET قوی را تحریک می‌کند. به طور مشابه، سیستئین پروتئاز کاتپسین C (CTSC) نیز در نتوزیس دخیل است، زیرا در نوتروفیل‌های بیماران مبتلا به سندرم پاپیلون لفور ناقص است که ناشی از جهش در پروتئین است که NE را به شکل بالغ آن تبدیل می‌کند. پروتئین دیگری DEK که در اتصال کروماتین هسته‌ای نقش دارد اخیراً در نتوزیس دخیل است زیرا نوتروفیل‌های دارای کمبود DEK نتوزیس معیوب را نشان می‌دهند و می‌توان با افزودن پروتئین DEK نوترکیب اگزوژن نجات داد، که نشان می‌دهد اتصال DEK باعث تراکم‌زدایی کروماتین به روشی مشابه با MPO می‌شود.

## تغییر هیستون در نتوزیس

تغییرات هیستون مانند دآمیناسیون یا سیترولیناسیون به تراکم کروماتین کمک می‌کند که توسط پروتئین آرژنین دیمیناز نوع ۴ (PAD4)، یک آنزیم هسته‌ای سیترولین کننده آرژنین که بقایای آرژنین را اسیترولین می‌کند، گروه‌های آمین را به کتون تبدیل می‌کند. علیرغم شواهدی که از نیاز به فعالیت کاهنده برای فعالیت PAD4 حمایت می‌کند، مهار NADPH اکسیداز باعث کاهش سیترولیناسیون می‌شود. علاوه بر این، PAD4 می‌تواند به اندازه کافی توسط پراکسید هیدروژن فعال شود، که به کلسیم نیاز دارد و توسط PKC فعال می‌شود، کینازی که در از هم پاشیدن ROS دخیل است. در مجموع، این مشاهدات حاکی از آن است که PAD4 در پایین دست ROS و سیگنال‌دهی کلسیم در طول نتوزیس قرار دارد.

سیترولیناسیون هیستون در طول نتوزیس نیز توسط محرک‌های فیزیولوژیکی مانند قارچ‌ها و کریستال‌ها القا می‌شود. با این حال، تراکم‌زدایی کروماتین به عنوان یک عامل ارزیابی دشوارتر بوده است. آزمایش‌هایی با مهار PAD4 در رده‌های سلولی یا با نوتروفیل‌های موش مشتق‌شده از موش‌های دارای کمبود PAD4 ابتدا به دلیل بازده خالص پایین دشوار بود. یکی از عوارض این است که سیترولیناسیون هیستون اغلب به عنوان تنها نشان‌گر برای تشخیص NETها در موش‌های دارای کمبود PAD4 یا مهار شده با PAD4 استفاده می‌شود. مشخص نیست که آیا فعالیت NE برای سیترولیناسیون هیستون برای ترویج تراکم‌زدایی کروماتین منحصر به فرد است یا خیر. تراکم‌زدایی کروماتین توسط مهارکننده‌های NE در طی عفونت قارچی ریوی بدون تداخل با سیترولیناسیون هیستون H3 مسدود می‌شود، که

www.takbook.com



نشان می‌دهد سیترولیناسیون هیستون مستقل از فعالیت NE رخ می‌دهد، اگرچه ممکن است برای ایجاد تراکم کروماتین کافی نباشد. یافته‌های اخیر نشان می‌دهد که فهرست پروتئین‌های سیترولینه شده در نتوزیس القا شده توسط میکروارگانیسم‌ها یا PMA تحت سلطه هیستون‌ها است و متمایز از هایپرسیترولیناسیون پروتئینی گسترده مرتبط با القاکننده‌های استرس مانند یونومیسین، سموم منافذ تشکیل دهنده و کمپلکس‌های ایمنی است. بنابراین محرک‌های مختلف القاکننده NET ممکن است آنزیم‌های PAD را به روش‌های مختلفی درگیر کنند و الگوی سوبستراهای سیترولینه‌شده می‌تواند به تعیین مکانیسم‌های بیماری‌زای ایمنی مربوطه در داخل بدن کمک کند.

## مکانیسم پاک‌سازی بقایای NETotic

مکانیسم‌های پاک‌سازی NET ها پس از دفع آن‌ها کمتر شناخته شده است. در طول عفونت، NETها به مدت چند روز باقی می‌مانند و تصور می‌شود که توسط نوکلئاز ترشح شده پلاسما DNase I از بین می‌روند. تزریق این آنزیم در طول عفونت استافیلوکوکوس اورئوس منجر به تخریب سریع DNA مرتبط با NET می‌شود، اما دینامیک پاک‌سازی NET توسط آنزیم‌های درون‌زا ناشناخته است. به طور قابل توجهی، پروتئین‌های NET مدت‌ها پس از تخریب DNA باقی می‌مانند، که نشان می‌دهد که مکانیسم‌های پاک‌سازی اضافی وجود دارد که ممکن است شامل مهار ماکروفاژ باشد، زیرا DNase I بلع NETها توسط ماکروفاژها را در شرایط آزمایشگاهی تسهیل می‌کند.

## تنظیم نتوزیس

NETها باکتری‌ها، قارچ‌ها، ویروس‌ها و انگل‌ها را خنثی کرده و از بین می‌برند و تصور می‌شود که از انتشار باکتری‌ها و قارچ‌ها جلوگیری می‌کند. با این حال، NETهای نامنظم می‌توانند در پاتوژنز بیماری‌های مرتبط با ایمنی نقش داشته باشند، بنابراین نتوزیس باید به شدت تنظیم شود تا از هرگونه آسیب‌شناسی جلوگیری شود. اندازه میکروارگانیسم یکی از عوامل متعددی است که بر نتوزیس تأثیر می‌گذارد. سنجش اندازه پاتوژن به رقابت برای دسترسی NE بین نتوزیس و فاگوسیتوز بستگی دارد. این مکانیسم استقرار NETها را در نوتروفیل‌ها علیه میکروارگانیسم‌های بزرگ امکان‌پذیر می‌کند. میکروارگانیسم‌های کوچک

www.takbook.com



NE را از هسته جدا می‌کنند و تراکم کروماتین را مسدود می‌کنند که در فاگوزوم‌هایی که با گرانول‌های آزوروفیل ترکیب می‌شوند، جذب می‌شوند. فقدان فاگوزوم‌ها در نوتروفیل‌ها با میکروارگانیسم‌هایی که برای بلعیدن بیش از حد بزرگ هستند مبارزه می‌کند که به NE اجازه می‌دهد تا از طریق مسیر آزوروزوم آهسته‌تر به هسته منتقل شود و نتوزیس را هدایت کند. علاوه بر این، انتشار NE در سیتوزول، تخریب اسکلت سلولی اکتین را تحریک می‌کند، فاگوسیتوز را مسدود می‌کند و سلول‌ها را به نتوزیس وادار می‌کند. اثر اندازه ذرات بر روی نتوزیس نیز به محرک‌های استریل مربوط می‌شود. کریستال‌های اورات سوزنی‌شکل بزرگ‌تر نسبت به ریزدانه‌های اوراتی که به اندازه کافی کوچک هستند، نتوزیس را تحریک می‌کنند. این القای محسوس نتوزیس آسیب بافت اضافی را در طول عفونت توسط پاتوژن‌هایی که به اندازه کافی بی‌اهمیت هستند برای کشتن درون سلولی محدود می‌کند. بر این اساس، موش‌هایی که فاقد گیرنده فاگوسیتیک ضد قارچی دکتین ۱ هستند، قادر به مهار انتخابی نتوزیس نیستند و در واکنش به میکروارگانیسم‌های کوچک در معرض آسیب‌شناسی با واسطه NET هستند. ممکن است نتوزیس برای میکروارگانیسم‌های بدخیم کوچک که مانع از کشتن فاگوزومی می‌شوند، حفظ شود. مطابق با این ایده، باکتری‌های انتروپاتوژن بدخیم باعث ایجاد NET می‌شوند، در حالی که باکتری‌های پروبیوتیک غیر ویروسی این کار را نمی‌کنند. یک استراتژی برای میکروارگانیسم های کوچک برای فرار از فاگوسیتوز، تجمع است. توده‌های بزرگ مایکوباکتریوم بوویس باسیلوس Calmette Guerin نتوسیس را به روشی وابسته به اندازه میکروارگانیسم هدایت می‌کنند. از سوی دیگر، نفوذ میکروبی با بلوغ فاگوزوم ممکن است میکروارگانیسم‌های کوچک را قادر به القای نتوزیس کند. Neisseria gonorrhoeae ادغام فاگوزوم با گرانول‌های آزوروفیل را به تاخیر می اندازد و نتوزیس را القا می‌کند. مکانیسم‌های بیماری‌زایی نیز در توانایی P. aeruginosa برای القای نتوزیس دخیل هستند که به بیان یک تاژک متحرک بستگی دارد. باکتری‌هایی که فاقد تاژک هستند قادر به ایجاد یک انفجار قوی ROS و نتوزیس نیستند، اما تاژک‌ها به تنهایی برای القای نتوزیس کافی نیستند. به نظر می‌رسد این یافته‌ها با اصل وابستگی به اندازه در تضاد هستند.

چندین اکتشاف نشان می‌دهد که نوسانات زیست‌شناسی سلولی نوتروفیل بر عوامل حدت میکروبی در طول نتوزیس تأثیر می‌گذارد. بسیاری از سروتیپ‌های بدخیم استافیلوکوکوس اورئوس نوتروفیل‌ها را از بین می‌برند و ممکن است ارتباط اجزای NET را با تجزیه فیزیکی

www.takbook.com



غشاهای سلولی تقویت کنند. به عنوان مثال، سم منافذ تشکیل‌دهنده S. aureus، leukotoxin GH، برای ایجاد نتوزیس کافی است، اما مشخص نیست که آیا برای القای NET توسط باکتری‌ها لازم است یا خیر. علاوه بر این، بیان اینواسین، چسبنده‌ای که به بتا - اینتگرین‌ها متصل می‌شود، انفجار ROS را برای القای نتوزیس در پاسخ به پرسینیا پسودوتوبرکلوزیس تقویت می‌کند. در نهایت، مشاهدات جهش‌یافته‌های Porphyromonas gingivalis که فاقد پروتئاز محرک فاگوسیتوز هستند، نتوزیس را هدایت می‌کنند هم‌چنین با توانایی فاگوسیتوز در تنظیم نتوزیس مطابقت دارد.

اگرچه NETها در سال ۲۰۰۴ کشف شدند، اما ما هنوز دانش محدودی در مورد این‌که چگونه تشکیل NETها کنترل می‌شود، داریم. القای نوتروفیل‌های جدا شده توسط PMA به مشاهده جدیدی معطوف شده است که نوتروفیل‌ها، NETها را تشکیل می‌دهند. PMA مونتاژ NADPH اکسیداز چند جزئی را به حرکت در می‌آورد و باعث تولید ROS می‌شود. نقش تولید اکسیدان با مطالعات نوتروفیل‌های بیماران مبتلا به CGD مشاهده می‌شود که نمی‌توانند ROS تولید کنند. نوتروفیل‌های CGD پس از قرار گرفتن در معرض PMA یا چالش با استافیلوکوکوس اورئوس قادر به آزادسازی NETها نیستند. از هم‌پاشیدگی پوشش هسته‌ای مشخصه بارز نوتروفیل‌هایی است که NETها را تشکیل می‌دهند که بسیار شبیه تجزیه غشای هسته‌ای در طول پیشرفت چرخه سلولی است. یک کار اخیر مشاهده کرده است که فعال‌سازی کینازهای وابسته به سیکلین (CDKs) به شدت در سیگنال‌دهی که منجر به تشکیل NET می‌شود، نقش دارد. سرکوب کردن CDK4 و CDK6 انتشار NETها را لغو می‌کند، در حالی که تولید ROS، فاگوسیتوز و دگرانولاسیون تحت تأثیر قرار نمی‌گیرند. بنابراین سیگنال‌هایی که تشکیل NET را هدایت می‌کنند به جای سیگنال‌دهی توالی‌هایی که منجر به انواع دیگر مرگ سلولی می‌شوند، شبیه سیگنال‌دهی چرخه سلولی هستند. با این حال، شواهد بیشتری برای تأیید چگونگی پاسخ نوتروفیل‌ها به فعال شدن CDK4/6 با مرگ سلولی به جای تکثیر سلولی مورد نیاز است. در واقع، این که آیا نوتروفیل‌ها هنوز هم در هنگام انتشار NET زنده هستند یا خیر، موضوعی است که در حال انجام است. علاوه بر این، در مطالعات جداگانه، گروه‌های دیگر منبع NET-DNA را به چالش کشیده‌اند و توضیح داده‌اند که NETها می‌توانند با DNA مشتق شده از میتوکندری تشکیل شوند. این مشاهدات با کار اخیر که ایمنی زایی NETها را به DNA اکسید شده با

www.takbook.com



منشا میتوکندری مرتبط می‌کند تأیید شد. تشکیل NET کشنده پس از قرار گرفتن در معرض دوزهای بالای PMA اتفاق می‌افتد که نیاز به ساعت‌ها قرار گرفتن در معرض و تولید اکسیدان دارد.

## سایر سلول‌های دخیل در نتوزیس

اگرچه تشکیل ET به شدت در زمینه نوتروفیل‌ها توصیف شده است، اما در انواع سلول‌های متعددی مانند ماکروفاژها، بازوفیل‌ها، ائوزینوفیل‌ها و ماست‌سل‌ها (MCs) نیز مشاهده شده است. صرف‌نظر از نوع سلول‌هایی که از آن‌ها آزاد می‌شوند، چندین ویژگی در ETها که از یک ستون DNA که با پپتیدها، پروتئازها و هیستون‌های ضد میکروبی تزئین شده‌اند، مشترک هستند. همه قادر به کشتن طیف وسیعی از میکروب‌ها هستند. با این وجود، آن‌ها هم‌چنین تفاوت‌های متمایزی مانند بخش‌های زیر سلولی مشتق از ستون DNA را نشان می‌دهند که ممکن است هسته یا میتوکندری، بخش سلول‌های واکنش‌دهنده، و مکانیسمهای مولکولی که باعث تشکیل ET می‌شوند باشند.

مسیر سیگنال‌دهی درون سلولی دخیل در تشکیل ET متشکل از تولید همزمان رادیکال‌های اکسیژن فعال با فعال‌سازی NADPH اکسیداز. چندین گزارش هم‌چنین نشان می‌دهد که ائوزینوفیل‌ها و نوتروفیل‌ها DNA میتوکندریایی را علاوه بر DNA کروموزومی آزاد می‌کنند تا ETها را بدون القای مرگ سلولی تشکیل دهند. با این حال، مکانیسم (های) آن ناشناخته باقی مانده است. درحالی‌که ETها عمدتاً از طریق اثر ضد میکروبی خود عمل می‌کنند، نقش کلی آن در دفاع در برابر پاتوژن‌ها قابل بحث است.

### بازوفیل‌ها

بازوفیل‌ها به دلیل خواص پیش التهابی و تنظیم‌کننده ایمنی، بیشتر با عفونت‌های آلرژیک و انگلی مرتبط هستند. در مطالعات اخیر اتصال بازوفیل‌ها به باکتری‌های مختلف با و بدون آنتی‌بادی‌های اپسونیزه‌کننده نشان داده شده است. همان‌طور که توسط مرشد و همکاران (۲۰۱۴) نشان داده شده است، بازوفیل‌های انسان و موش قادر به ایجاد تله‌های DNA خارج سلولی با تولید ROS میتوکندری هستند. این امر با پرایمینگ IL-3 و به دنبال آن فعال شدن گیرنده فاکتور مکمل 5a یا FCRI به دست می‌آید. چنین تله‌های خارج سلولی

www.takbook.com



بازوفیل (BETها) عمدتاً از DNA میتوکندری و نه DNA هسته‌ای، همراه با پروتئین‌های دانه‌ای مانند بازوگرانولین و پروتئاز ماست سل موش تشکیل شده‌اند. تشکیل BETها بدون توجه به هر گونه NADPH اکسیداز عمل‌کننده در بازوفیل‌ها به وجود می‌آید. نقش التهابی BETها در داخل بدن از مطالعات مختلف مشهود است که نشان می‌دهد BETها را می‌توان هم در بافت‌های ملتهب انسان و هم در موش یافت. در مجموع، این یافته‌ها حاکی از عملکردهای مؤثر مستقیم ذاتی ایمنی هستند که توسط بازوفیل‌ها در فضای خارج سلولی اعمال می‌شوند.

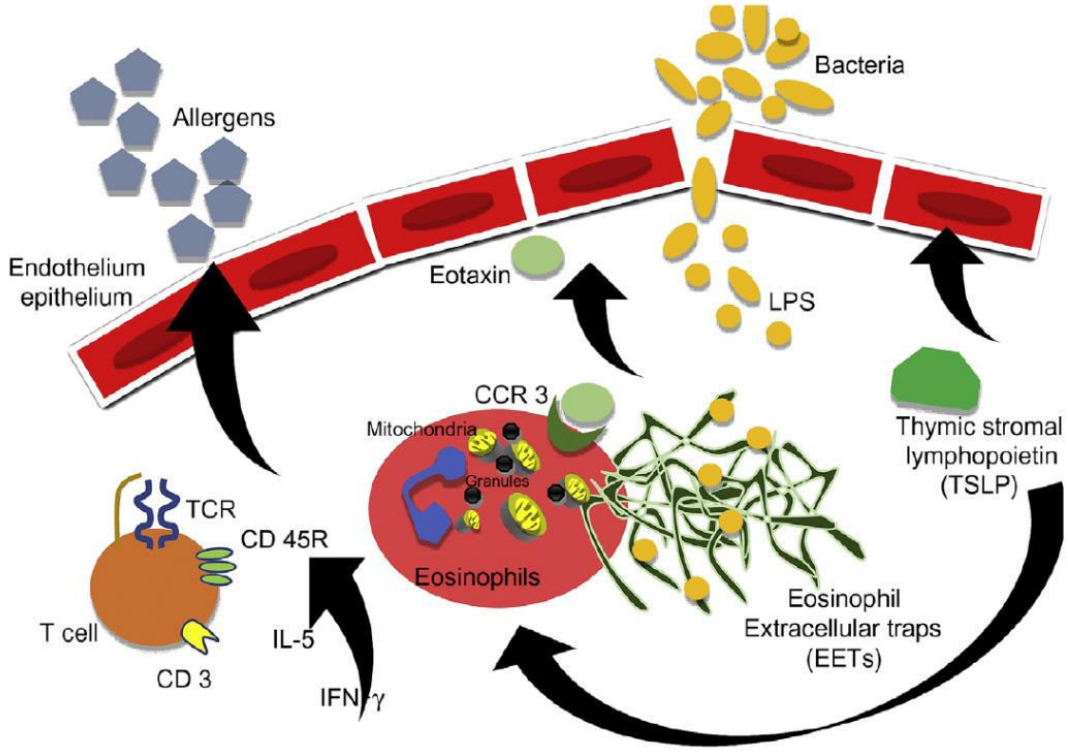
## ائوزینوفیل‌ها

مشابه BETها، EETها (شکل ۱-۴) نیز در چندین بیماری ائوزینوفیلیک عفونی، آلرژیک و خودایمنی دیده می‌شود. این EETها شامل شبکه‌ای از الیاف DNA است که با پروتئین‌های گرانول ائوزینوفیل، مانند پروتئین ابتدایی اصلی (MBP) و پروتئین کاتیونی ائوزینوفیل (ECP) تعبیه شده است. به طرز شگفت‌انگیزی، EETها هم‌چنین حاوی DNA میتوکندری در تله‌های خود به جای DNA هسته‌ای هستند و ممکن است منشا آن در میتوکندری باشد. این ائوزینوفیل‌های DNA میتوکندریایی که از DNA خارج می‌شوند همچنان زنده بودند زیرا هیچ مدرکی دال بر کاهش طول عمر نشان ندادند. ائوزینوفیل‌ها مکانیسم‌های فعال‌سازی متعددی را درگیر می‌کنند که به موجب آن فرآیندهای انتقال سیگنال غشایی توسط گیرنده‌های مشابه، سایتوکاین، کموکاین و گیرنده‌های چسبندگی آغاز می‌شوند که منجر به تشکیل EETs می‌شود. انتشار DNA ائوزینوفیل هم‌چنین نیازمند فعال شدن NADPH اکسیداز به عنوان یکی از رویدادهای سیگنالینگ حیاتی آن است. دخالت EETها در چندین بیماری عفونی مانند اسپیروکتوز، که در آن DNA خارج سلولی همان‌طور که در داخل بدن دیده می‌شود به باکتری‌ها متصل می‌شود، نشان داده شده است. EETها هم‌چنین در بافت‌های آلوده به شیستوزوما، در بیماری‌های پوستی عفونی مانند بیماری کریپینگ و گال مشهود بود. ائوزینوفیل‌ها هم‌چنین نقش محافظتی در سپسیس تجربی مرتبط با EETها دارند. EETها در درجه اول در بیماری‌های التهابی آلرژیک مانند آسم برونش، درماتیت آتوپیک، درماتیت تماسی و واکنش‌های آلرژیک دارویی نقش دارند. برای

www.takbook.com



این پیامدها، تحقیقات آینده در مورد EETs امکان به دست آوردن نشان‌گرهای زیستی جدید و اهداف درمانی در بیماری‌های ائوزینوفیلیک را دارد.




**شکل ۱-۴. تشکیل تله خارج سلولی در ائوزینوفیل. باکتری‌های مهاجم و/یا سایتوکاین‌های تولید شده توسط سلول‌های اپیتلیال و/یا سلول‌های T ممکن است مستقیماً ائوزینوفیل‌ها را فعال کنند. پرایمینگ سایتوکاین با IL-5 یا IFN-γ و تحریک بعدی با LPS باکتریایی، ائوستاکسین یا فاکتور مکمل C5a باعث ایجاد تله‌های خارج سلولی ائوزینوفیل (EETs) می‌شود. ائوزینوفیل‌های چسبنده نیز توسط لنفوپویتین استرومای تیموس تحریک می‌شوند. EETها حاوی DNA میتوکندری و پروتئین‌های گرانول هستند، اما هیچ پروتئین سیتوزولی، میتوکندری، هسته‌ای یا غشایی ندارند.**

## ماست سل‌ها

تله‌های خارج سلولی ماست سل (MCETها)، مشابه NETها، می‌توانند میکروب‌های مختلف را به دام بیندازند و از بین ببرند. MCها با آزادسازی DNA هسته‌ای خود، MCETها را تشکیل می‌دهند. در زمان واکنش‌های آلرژیک و عفونت‌های انگلی، این MCها نقش مهم و حتی عنصر اساسی در پاسخ ایمنی ذاتی میزبان اولیه به پاتوژن‌های باکتریایی و قارچی را ایفا می‌کنند. MCها با به کارگیری نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها با آزادسازی موضعی برخی واسطه‌های التهابی در شروع پاسخ ایمنی اولیه نقش دارند. MCها، MCETهایی مشابه فاگوسیت‌های حرفه‌ای تشکیل می‌دهند و میکروب‌ها را با مکانیسم‌های ضد میکروبی داخل

www.takbook.com



سلولی و هم‌چنین خارج سلولی حذف می‌کنند. در طی تجزیه سلولی، DNA و برخی پروتئین‌های گرانول آزاد می‌شود که دلیل تشکیل MCET نیستند، بلکه این یک فرآیند کنترل شده از طریق تحریک خاص است و هم‌چنین نقش مهمی در دفاع ذاتی میزبان دارد. تعداد زیادی مکانیسم مختلف توسط MCها برای مقابله با مهاجمان و عوامل درون‌زا نامطلوب ایجاد شده است. این‌ها شامل سنتز، انتشار و ذخیره‌سازی واسطه‌های التهابی است که MCET و فاگوسیتوز را تشکیل می‌دهند.

## مونوسیت‌ها و ماکروفاژها

ماکروفاژها عملکردهای مختلفی را انجام می‌دهند که شامل ترمیم بافت، تنظیم هموستاز و عملکرد ایمنی می‌شود. ETها در پاسخ به میکروارگانیسم‌های مختلف توسط ماکروفاژها تشکیل می‌شوند. این ETهای تشکیل شده توسط مونوسیت‌ها و ماکروفاژها مشابه ویژگی‌های NET هستند. برنامه مرگ سلولی که توسط آن تله خارج سلولی ماکروفاژها (METs) تولید می‌شود، متوزیس است که در آن فیبرهایی متشکل از DNA و پروتئین‌های سلولی آزاد می‌شوند. METها همراه با بی‌حرکتی و مرگ برخی از میکروارگانیسم‌ها نیز در آسیب‌شناسی بیماری نقش دارند. مانند NETها، METها فیبرهای خارج سلولی متشکل از DNA هستند که در خارج از سلول گسترش می‌یابند و با درمان با DNase I یا نوکلئاز میکروکوکی تجزیه می‌شوند. در METهای تولید شده توسط مونوسیت‌های خون محیطی انسان و سلول‌های ماکروفاژ مانند THP-1، وجود اجزای شناخته شده ET مانند هیستون‌ها، الاستاز یا MPO وجود دارد.

در سال ۲۰۱۶ هالدر و همکاران مشخص نمودند که METهای آزاد شده توسط مونوسیت‌ها را می‌توان در حضور سرم انسانی تقویت یا افزایش داد؛ و هم‌چنین نشان دادند که فاکتورهای مکمل، C3b و C5b-9، زمانی که سرم حاوی محیط کشت با C. albicans آلوده شد، روی MET ها رسوب کردند. آن‌ها پیشنهاد کردند که مکمل فعال می‌تواند فعالیت میکروب‌کشی را اضافه کند و امکان افزایش اپسونیزاسیون و فاگوسیتوز ارگانیسم‌ها در ETs را در طول حل پاسخ‌های التهابی فراهم کند.

برخی از مطالعات زنده ماندن مونوسیت و ماکروفاژ تحت متوسیس را ارزیابی کرده‌اند. در سال ۲۰۱۰ چاو و همکاران سلول‌ها را برای فعالیت استراز داخل سلولی و یکپارچگی غشای

www.takbook.com



پلاسمایی رنگ‌آمیزی کردند و دریافتند که رنگ‌آمیزی سلول‌های RAW 264.7 ماکروفاژ مانند تولیدکننده MET با از دست دادن یکپارچگی غشاء ثابت است، که نشان می‌دهد این سلول‌ها دیگر زنده نیستند. رویکرد مشابهی توسط وگا و همکاران (۲۰۱۴) استفاده شد و دریافتند که در عرض ۳ ساعت سلول‌های ماکروفاژ مانند موش J774A.1 تولید کننده MET، مرده‌اند. رنگ‌آمیزی TUNEL سلول‌های THP-1 قطبش Ml توسط ناکازاوا و همکاران (۲۰۱۶) برای ارزیابی این سلول‌ها که DNA خارج سلولی را پس از قرار گرفتن در معرض NET آزاد می‌کنند انجام شد. سلول‌ها برای رنگ‌آمیزی TUNEL مثبت بودند که با گزارشی در مورد نوتروفیل‌ها که نشان می داد سلول‌های تولیدکننده NET، TUNEL منفی هستند در تناقض است.

وبستر و همکاران (۲۰۱۰) نقش کاسپاز-۱ را در میتوز ارزیابی کردند. آن‌ها نشان دادند که مونوسیت‌های خون محیطی انسان آلوده به اشریشیا کلی یا کلبسیلا پنومونی منجر به فعال‌سازی کاسپاز ۱ می‌شود که بخشی از پیروپتوز، یک مسیر مرگ سلولی غیرآپوپتوزیس است. انتشار MET با مهار کاسپاز-۱ توسط ماده شیمیایی Z-YVAD-FMK کاهش یافت. در طول ۱۲ ساعت اول عفونت، آنها با فعال شدن کاسپاز ۱ قابلیت حیات سلولی را از دست دادند. کاسپاز-۱ قبلی در نتوزیس فعال نشده بود در حالی که در ماکروفاژها در پاسخ به ماده NET و پروتئین ضد باکتریایی LL-37 موجود در الیاف NET فعال می‌شود.

داده‌های پراکنده موجود نشان می‌دهد که متوزیس در واقع یک فرآیند مرگ سلولی است، مشابه مسیرهای کلاسیک در نوتروفیل‌ها. برای تعریف محرک‌ها و مسیرهایی که ماکروفاژ را از سایر پاسخ‌های ایمنی به متوزیس حرکت می‌دهند، به کار بیشتری نیاز است. هم‌چنین برای تمایز نشان‌گرهای مسیرهای مرگ سلولی مختلف، از جمله متوزیس و برای روشن کردن داده‌های متناقض، مطالعات بیشتری مورد نیاز است.

www.takbook.com

www.takbook.com

# فصل دوم:

## نتوزیس؛ مکانیسم‌ها و استراتژی‌های ضد میکروبی

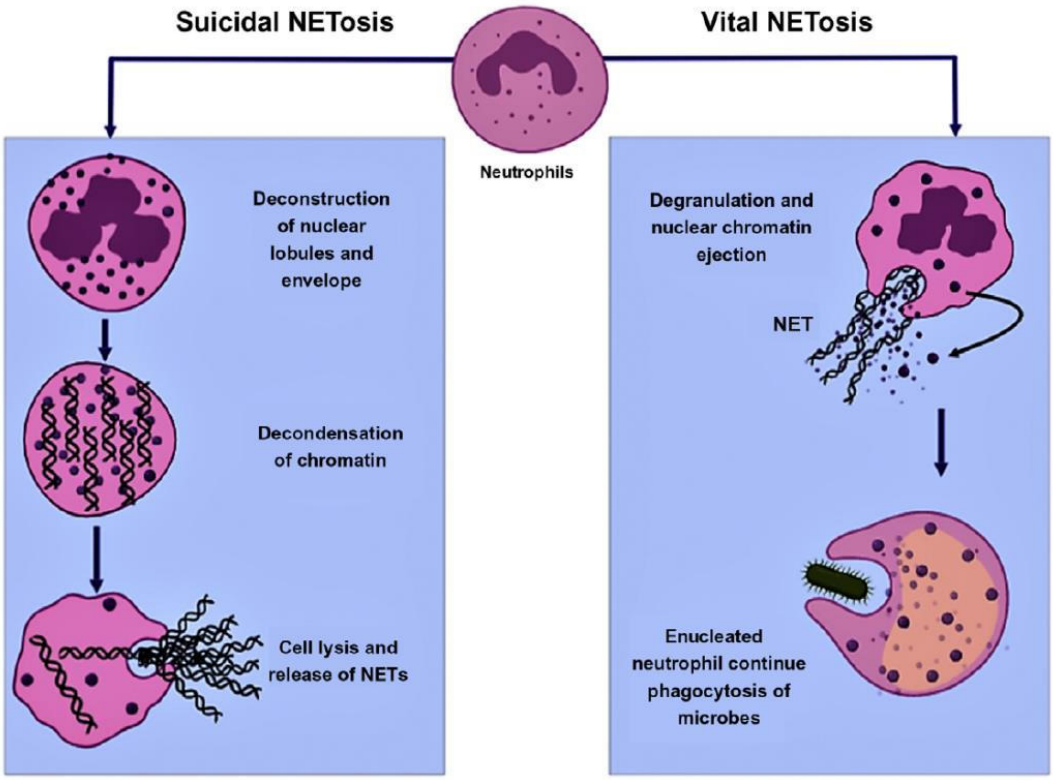
فرآیند تشکیل تله خارج سلولی در طول نتوزیس شامل یک دوره پیچیده با چندین مرحله متوالی از جمله: تشکیل گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) به دنبال انتقال نوتروفیل الاستاز (NE) و متعاقباً میلوپراکسیداز (MPO) از گرانول‌ها به هسته است؛ باز شدن DNA از نوکلئوزوم ها ناشی از تغییرات هیستون، و در نهایت اختلال در غشای سیتوپلاسمی و آزاد شدن کروماتین است (شکل ۲-۱). طراحی روش‌های تجربی مرتبط برای مطالعه مکانیسم‌های نتوزیس چالش‌برانگیز است، که با استفاده از القاکننده‌های فارماکولوژیک نتوزیس پیچیده‌تر می‌شود. با وجود این موانع، پیشرفت‌های معقولی در درک مکانیسم‌های نتوزیس انجام شده است.

محرک‌های القا کننده نتوزیس را می‌توان تقریباً به محرک‌های مرتبط با پاتوژن یا محرک‌های التهابی یا درون‌زا طبقه‌بندی کرد. محرک‌های فیزیولوژیکی مرتبط با پاتوژن شامل ویروس‌ها، باکتری‌ها، تک یاخته‌ها و قارچ‌ها هستند. نتوزیس با واسطه ROS می‌تواند توسط موادی مانند آنتی‌بادی‌ها و کمپلکس‌های آنتی بادی آنتی‌ژن پراکسید هیدروژن؛ ترکیبات حاصل از میکروب‌ها مانند لیپو پلی ساکارید (LPS) لیپوفسفوگلیکان‌های موجود در

www.takbook.com



Leishmania amazonensis و پروتئین Ml در استرپتوکوک پیوژنز القا شود. تله‌های خارج سلولی هم‌چنین می‌توانند توسط پلاکت‌های فعال شده با گیرنده Toll مانند (TLR4) ایجاد شوند. مجموعه متنوعی از گیرنده‌های سیگنال بر روی نوتروفیل‌ها می‌توانند نتوزیس را القاء کنند، مانند اتصال از طریق TLR، گیرنده‌های Fc، یا گیرنده‌های مکمل در القای تله خارج سلولی نوتروفیل (NET) دخیل هستند. گیرنده‌های سایتوکاین هم‌چنین ممکن است با سیگنال‌دهی نتوزیس مرتبط باشند، مانند IL-8، TNF، و IFN-γ که نشان داده‌اند باعث ایجاد نتوزیس می‌شوند. مطالعات بیشتر برای بررسی تعامل یا گفتگوی متقابل بین دسته‌های مختلف گیرنده‌های نوتروفیل دخیل در القای نتوزیس ضروری است.




**شکل ۲-۱. مسیرهای تشکیل NET: دو مسیر برای تشکیل NET وجود دارد. مسیر اول با جداسازی هسته و جداسازی پوشش هسته شروع می‌شود و به دنبال آن از بین رفتن پلاریزاسیون سلولی، تراکم‌زدایی کروماتین و پارگی غشای پلاسما رخ می‌دهد. مسیر دوم از دفع ترشحی کروماتین هسته‌ای همراه با آزادسازی پروتئین دانه‌ای از طریق دگرانولاسیون استفاده می‌کند که بدون تجزیه سلولی انجام می‌شود. این اجزا به صورت خارج سلولی ادغام می‌شوند و سیتوپلاست‌های هسته دار را پشت سر می گذارند و توانایی جذب میکروارگانیسم ها را حفظ می‌کنند.**

www.takbook.com



## نقش DNA و هیستون‌ها در آزادسازی تله خارج سلولی نوتروفیل

### DNA در نتوزیس

یک پیش‌نیاز برای تشکیل NET، استقرار مواد هسته‌ای از هسته به محیط است. بسیاری از سلول‌های یوکاریوتی به طور معمول پوشش هسته‌ای خود را حتی بدون NADPH اکسیداز تجزیه می‌کنند تا تقسیم DNA را تسهیل کنند. مکانیسم‌های مولکولی نحوه آزادسازی DNA توسط نوتروفیل‌ها از هسته ممکن است با ارزیابی نحوه تقسیم هسته‌ای سلول‌های دیگر به دست آید. یک غشای لیپیدی بیرونی و درونی به عنوان اجزای تشکیل‌دهنده پوشش هسته‌ای به همراه کمپلکس‌های منافذ آبی که به طور ساختاری توسط رشته‌های پروتئینی میانی به نام لامینا بسته شده‌اند، عمل می‌کند که می‌توانند توسط میکروتوبول‌ها باز شوند. پوشش هسته‌ای ممکن است به سرعت تجزیه شود همان‌طور که از مکانیسم‌های دو فازی مشاهده شده در تخمک‌ها مشهود است که در آن جداسازی جزئی مجتمع منافذ در حدود ۱۰ دقیقه انجام می‌شود. به دنبال این، نفوذپذیری کامل در عرض ۳۵ ثانیه صورت می‌گیرد و در نهایت، تفکیک کامل لایه در ۱۰ دقیقه دیگر انجام می‌شود و به میکروتوبول‌ها نیاز دارد. با این حال، شواهدی مبنی بر اینکه این مکانیسم‌ها در نوتروفیل‌ها نیز رخ می‌دهند، در حال حاضر مشخص نیست، درست همان‌طور که نیاز آن‌ها برای آزادسازی DNA در سیتوپلاسم در گذشته آزادسازی NET بود. این نشان می‌دهد که نوتروفیل‌ها احتمالاً مکانیسم‌های متمایز شکستن پوشش هسته‌ای را درگیر می‌کنند. نمونه‌ای از این، جابجایی الاستاز به هسته به عنوان پیش‌شرط آزادسازی NET است، با این حال بیشتر الاستاز محدود به نوتروفیل است.

### فعالیت میکروب‌کشی DNA در تله‌های خارج سلولی نوتروفیل

گزارش‌هایی مبنی بر داشتن فعالیت باکتری‌کشی سریع DNA به دلیل توانایی آن در جداسازی کاتیون‌های متصل به سطح، مختل کردن یکپارچگی غشاء و تجزیه سلول‌های باکتریایی وجود دارد. با این حال، تماس مستقیم و ستون فقرات فسفودیستر برای کیلیت کاتیونی و خاصیت ضد میکروبی DNA مورد نیاز است. تیمار NETها با کاتیون‌های اضافی یا آنزیم فسفاتاز، فعالیت ضد میکروبی NETها را خنثی می‌کند، اما ساختار NET، از جمله محلی‌سازی و عملکرد پروتئین‌های متصل به NET را حفظ می‌کند.

www.takbook.com



## پروتئین‌های اصلی دخیل در نتوزیس

ترکیبات پروتئینی اولیه NETها هیستون‌ها هستند که توسط آنزیم‌ها و پپتیدهای دانه‌ای شامل NE، MPO، کاتپسین G، پروتئیناز لکوسیت ۳ (PR3)، لاکتوفرین، ژلاتیناز، لیزوزیم C، کالپروتکتین، دفنسین‌های نوتروفیل و کاتلیکین‌ها دنبال می‌شوند. اصطلاح NET برای اشاره به مجموعه‌ای از این‌ها به همراه ساختارهای کروماتین آزاد شده استفاده شد و این مسیر غیرعادی مرگ سلولی در نهایت نتوزیس نام گرفت. تعداد زیادی از القاءکننده‌های نتوزیس شرح داده شده‌اند، از جمله باکتری‌ها یا اجزای باکتریایی، پروتوزوا، قارچ‌ها، ویروس‌ها، پپتیدهای مشتق از مکمل، پلاکت‌های فعال شده، اوتونوتیبادی‌ها، IL-8، کریستال‌های اورات، پراکسید هیدروژن، دود سیگار، و یونوفورها.

NETهای با واسطه NADPH هم‌چنین به جلوگیری از عفونت کمک می‌کنند زیرا بیماران مبتلا به بیماری گرانولوماتوز مزمن (CGD) (یک بیماری نقص ایمنی اولیه که باعث انفجار تنفسی در لکوسیت‌های فاگوسیتی می‌شود) عفونت‌های مکرر را به دلیل کمپلکس NADPH اکسیداز تحمل می‌کنند. استفاده از ژن درمانی برای بازیابی عملکرد آن، توانایی تشکیل NET و غلبه بر عفونت‌های قارچی ریه را بازسازی می‌کند. در طول نتوزیس، NE همراه با MPO مونتاژ می‌شود و به هسته منتقل می‌شود که در آن هیستون‌های هسته پردازش می‌شود. این باعث افزایش سطح کلسیم داخل سلولی می‌شود که پپتیدیل آرژنین دیمیناز ۴ (PAD4) را فعال می‌کند، که آرژنین موجود در هیستون‌ها را به سیترولین تبدیل می‌کند و منجر به کاهش بار مثبت این پروتئین‌ها می‌شود. در مجموع، این رویدادهای مولکولی باعث کاهش تراکم کروماتین می‌شود. متعاقباً پس از حدود ۲ ساعت، نوتروفیل‌های القا شده توسط فوربول-۱۲- میریستات -۱۳- استات (PMA) نواحی هتروکروماتیک هسته و هم‌چنین لوبول‌های هسته‌ای مشخصه را از دست می‌دهند. در نتیجه هسته‌ها جمع می‌شوند و منبسط می‌شوند. پوشش هسته‌ای به وزیکول‌ها، گرانول‌ها و میتوکندری‌ها فرو می‌ریزد. سیتوپلاسم و کاریوپلاسم با هم مخلوط می‌شوند و در نهایت غشای سلولی می‌ترکد و محتوای سلولی را تخلیه می‌کند که در فضای خارج سلولی باز می‌شود و NETها را تشکیل می‌دهند.

www.takbook.com



## هیستون‌ها در تله خارج سلولی نوتروفیل

اولین بار توسط آلبرشت کوسل در سال ۱۸۸۴ تعریف شد، هیستون‌ها پپتون‌های غنی از هیستیدین هستند که از جزء هسته‌ای گلبول‌های قرمز پرندگان منشأ می‌گیرند. هیستون‌ها پروتئین‌های چاپرون هسته‌ای هستند که به میزان زیادی در تمام یوکاریوت‌ها حفظ می‌شوند و به دلیل بار بسیار مثبت با اسیدهای نوکلئیک برهم‌کنش دارند که توسط بقایای لیزین و آرژنین ایجاد می‌شود. حدود ۱۴۷ جفت باز DNA در ۱/۷ دور توسط اکتامر پروتئین هیستونی متشکل از هیستون‌های هسته (H2A، H2B، H3، و H4) به دور هر نوکلئوزوم پیچیده می‌شود، که بیشتر توسط هیستون‌های پیوند دهنده (Hl و/یا H5) فشرده می‌شود. این ساختار کروماتین فشرده DNA را تشکیل می‌دهد. انتشار DNA در نتوزیس مستلزم شل شدن DNA دارای پیوند محکم از هیستون‌ها است.

تغییرات مختلف پس از ترجمه هیستون‌ها که به فرآیند نتوزیس کمک می‌کنند، از جمله استیلاسیون، متیلاسیون، فسفوریلاسیون، سومویلاسیون، ریبوزیلاسیون ADP، یوبیکوئیتیلیون، دایمیناسیون و ایزومریزاسیون پرولین شناسایی شده است. در یک عملکرد سلولی معمولی، این ترکیب رابط DNA هیستون را تغییر می‌دهد و اجازه می‌دهد تا رونویسی رخ دهد. تراکم‌زدایی کروماتین و آزادسازی DNA ژنومی به دلیل تخریب کنترل‌شده هیستون در NETs توضیح داده شده است. این ساختارهای شبکه مانند به ترومبوز داخل عروقی کمک می‌کنند، گسترش میکروارگانیسم‌ها را محدود می‌کنند، متاستاز سرطان را تحریک می‌کنند و باعث آسیب مستقیم به سلول‌های مجاور می‌شوند.

## هیستون‌ها به عنوان الگوهای مولکولی مرتبط با آسیب

در میان اولین و بهتر توصیف شده‌ترین روش‌هایی که هیستون‌ها آسیب سلولی را تشدید می‌کنند، نقش آن‌ها به عنوان آلارم‌ها یا الگوهای مولکولی مرتبط با آسیب (DAMPS) است. هیستون‌ها یکی از آلارم‌ها یا DAMPS در ابتدا شناخته شده و به خوبی توصیف شده‌اند که آسیب سلولی را تشدید می‌کنند. سلول‌های نکروزه هیستون‌ها را به‌طور غیرفعال بیرون می‌کنند (یا به‌طور فعال با سایر روش‌های مرگ سلولی از جمله نتوزیس) روی سلول‌های مجاور و سلول‌های ایمنی در گردش از طریق گیرنده‌های تشخیص الگو عمل می‌کنند تا منجر به فعالیت بیولوژیکی متمایز شود. تفسیر این مشاهدات در سیستم‌های درون بدن

www.takbook.com



موجود زنده دشوار است، زیرا هیستون‌ها با DNA هسته‌ای و سایر DAMPهای هسته‌ای مانند HMGBl (پروتئین جعبه گروهی با تحرک بالا ۱) که هرکدام با فعالیت‌های جداگانه خود آزاد می‌شوند، آزاد می‌شوند.

سمیت سلولی هیستون‌ها به خوبی بیان می‌شود زیرا آنتی‌بادی‌های آنتی هیستونی برای جلوگیری از پاتوژنز در مدل‌های مختلف بیماری گزارش شده است. مقادیر زیادی هیستون توسط NETها در بافت‌هایی آزاد می‌شود که نه تنها میکروب‌ها را هدف قرار می‌دهند بلکه باعث آسیب بافتی نیز می‌شوند. مطمئناً این تأکید می‌کند که عملکرد ضد میکروبی NETها ممکن است، حداقل تا حدی، به دلیل هیستون‌ها باشد و احتمالاً تأثیر بیماری‌زایی NETها را تحت تأثیر قرار می‌دهند.

از میان تغییرات هیستون پس از ترجمه که واسطه بیان ژن و ساختار کروماتین است، یکی از تغییراتی که قبلاً در نتوزیس بیان شده بود، «بریدن» توسط پروتئازهای سرین است که ممکن است تراکم کروماتین و انتشار DNA بعدی را امکان پذیر کند. هیستون‌ها هم‌چنین در NETها سیترولینه می‌شوند جایی که تبدیل آرژنین به سیترولین (اسید آمینه غیر کدگذاری نشده) توسط پپتیدیلارژینین دیمینازها (PADs) وجود دارد. PAD4 در سیترولیناسیون هیستون در طول نتوسیس شرایط آزمایشگاهی نقش دارد و حذف شیمیایی یا ژنتیکی PAD4 باعث کاهش تشکیل NET می‌شود. با این حال، نیاز PAD4 برای نتوسیس هنوز مورد تردید است.

## گونه‌های فعال اکسیژن به عنوان عامل کلیدی در نتوزیس

شواهد ROS به عنوان یک بازیکن کلیدی در مسیر نتوزیس کشنده کلاسیک از دو مشاهدات متمایز ظاهر شده است: اول، بیماران مبتلا به CGD توانایی تشکیل NET را از نوتروفیل‌های خود کاهش می‌دهند زیرا این نوتروفیل‌ها قادر به واسطه شدن انفجار اکسیداتیو نیستند. با این حال، این با فرسایش نتوزیس ناشی از کمپلکس اکسیداز فاگوسیتیک معیوب (PHOX) که در آن درمان با HO3 تولید NETs، پایین دست کمپلکس PHOX در بیماران CGD را نجات می‌دهد، متمایز است. دوم، مهار نتوزیس نیز در حضور روبنده‌های ROS مانند N-acetylcysteine یا Trolox صورت می‌گیرد. با این حال، نقش ROS در جداسازی پوشش هسته‌ای یا اختلاط اجزای NETها هنوز نامشخص است. برخی

www.takbook.com



از مطالعات نشان می‌دهد که ROS در تحریک تغییرات مورفولوژیکی مشاهده شده در طول نتوزیس نقش دارد. در غیر این صورت ROS ممکن است کاسپازها را غیرفعال کند، بنابراین مانع آپوپتوزیس و حمایت از اتوفاژی می‌شود که منجر به انحلال غشاهای سلولی می‌شود. این دو مسیر تحت شرایط تجربی متنوع مستقل هستند و صرفاً متقابل نیستند. تعداد زیادی از شواهد از این واقعیت حمایت می‌کند که نتوزیس مستقل از NADPH اکسیداز توسط محرک‌های خاصی القا می‌شود که بعداً در این فصل توضیح داده خواهد شد.

تشکیل ROS در نوتروفیل‌ها در طول «انفجار تنفسی» اتفاق می‌افتد که شامل کمپلکس NADPH اکسیداز است. مونتاژ این کمپلکس آنزیمی چند جزئی در حین فعال شدن در غشاهای گرانول‌های خاص، روی غشای سیتوپلاسمی نوتروفیل‌ها صورت می‌گیرد و عمدتاً در انتقال الکترون‌ها از NADPH موضعی در سیتوپلاسم از طریق غشاء به اکسیژن مولکولی نقش دارد. سپس کاهش یک الکترون در اکسیژن اتفاق می‌افتد و رادیکال آنیون سوپراکسید ($O_2$) را تشکیل می‌دهد و پس از آن، همزمان یا با ارتباط سوپراکسید دیسموتاز (SOD) با پراکسید هیدروژن ($H_2O_2$) به عنوان محصول جانبی، تحت تبدیل ردوکس قرار می‌گیرد. دگرگونی بیشتر این ROS اولیه [($O_2$) و $H_2O_2$] به دنبال تولید متابولیت‌های فعال‌تر، به عنوان مثال، رادیکال هیدروکسیل (OH) و اسید هیپوکلرو (HOCl) صورت می‌گیرد. یکی از قوی‌ترین اثرات میکروب‌کشی توسط HOCl ایجاد می‌شود و با دخالت MPO، آنزیم گرانول‌های آزوروفیلیک تشکیل می‌شود.

MPO بخش مهمی از «آزوروسام»، که یک کمپلکس پروتئینی است، را تشکیل می‌دهد که در گرانول‌های آزوروفیل قرار دارد و حاوی هشت پروتئین است که شامل سه پروتئاز سرین بسیار همولوگ NE، کاتپسین G و آزوروسیدین است. این پروتئازهای کوچک، اگرچه فاقد سیگنال‌های محلی‌سازی هسته‌ای هستند، می‌توانند به طور غیر فعال در هسته منتشر شوند. این اتفاق زمانی رخ می‌دهد که پراکسید هیدروژن باعث ایجاد تفکیک آزوروزوم می‌شود و باعث نشت این پروتئازهای سرین به داخل سیتوپلاسم می‌شود و از جایی که پیشنهاد می‌شود به هسته مهاجرت کنند. سپس برش هیستون‌ها در هسته با واسطه این پروتئازهای سرین انجام می‌شود و باعث رهاسازی کروماتین می‌شود.

www.takbook.com



## کینازهای چرخه سلولی در نتوزیس وابسته به گونه‌های اکسیژن فعال

یکی از عوامل شگفت‌آور NADPH وابسته به اکسیداز نتوزیس، نیاز به فعال‌سازی کینازهای وابسته به سیکلین (CDKs) در نوتروفیل‌های تمایز انتهایی برای خارج شدن از مرحله استراحت G0 و وارد شدن به چرخه سلولی است. نشان‌گرهای منحصر به فرد برای نتوزیس تحت نوتروفیل، نشان‌گرهای پرولیفراتیو Ki-67 هستند و CDK6 در فسفوریلاسیون سوبسترای چرخه سلولی خود، پروتئین رتینوبلاستوما، در طول تشکیل NET نقش دارد. مطمئناً موش‌های دارای کمبود CDK6 بیشتر در معرض عفونت هستند. رویدادهای فاز S که شامل سنتز DNA و رونویسی ژن‌های هیستون است، در طول نتوسیس رخ نمی‌دهد. به طور غیرمنتظره رویدادهای فاز M مانند فسفوریلاسیون لامین و جداسازی سانتروزوم در تشکیل NET نقش دارند. این امر بر استفاده از ماشین های سلولی در جداسازی غشای هسته‌ای توسط نوتروفیل‌ها تاکید می‌کند.

## نتوزیس مستقل از گونه‌های اکسیژن فعال

نتوزیس هم‌چنین می‌تواند به روشی مستقل از NADPH اکسیداز/ROS بدون نیاز به NE انجام شود و توسط هیستون H3 سیترولینه شده شناسایی شود. اولین بار در یونوفور کلسیم A23187 مشاهده شد، یک القاءکننده NET که از طریق رشد Streptomyces chartreusensis تولید می‌شود و یک القاءکننده دیگر، یونوفور پتاسیم نیجریسین، مشتق شده از باکتری Streptomyces hygroscopicus، نیازی به فعالیت NADPH اکسیداز یا MPO ندارد. اگرچه دو تا از مسیرهای نتوزیس توسط داده‌های تجربی مختلف پشتیبانی می‌شوند. با این حال، مکانیسم‌های درگیر در انتشار NET هنوز به خوبی شناخته نشده است. واسطه‌های نتوزیس موجود در نوتروفیل‌ها نیازی به بیان ژن جدید ندارند و نه وابسته به NADPH اکسیداز هستند و نه مستقل از NADPH اکسیداز. به طور قابل توجهی شبیه به شکل متعارف نتوزیس جایگزین از نکروپتوز، آپوپتوزیس و سایر اشکال مرگ سلولی متمایز است. به ویژه، تشکیل NET می‌تواند به ROS مشتق شده از میتوکندری یا پاتوژن از طریق مسیری بستگی داشته باشد که باید به طور مفصل توضیح داده شود.

اخیراً نقش Gasdermin-D (GSDMD)، یک پروتئین تشکیل دهنده منافذ و مجری پیروپتوز، نشان داده شده است که نقش حیاتی در تشکیل NET ایفا می‌کند. در نوتروفیل‌ها،

www.takbook.com



پروتئازهای سرین، مانند NE، GSDMD را می‌شکند و اجازه تخلیه پروتئین‌های دانه‌ای را که برای پیشرفت نتوزیس در یک حلقه پیش‌خور لازم هستند، می‌دهد. نتوزیس وابسته به GSDMD هم‌چنین می‌تواند با فعال‌سازی التهاب‌های غیر متعارف در نوتروفیل‌ها اتفاق بیفتد، همان‌طور که چن و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کرده‌اند. این دو مطالعه با هم نشان می‌دهند که چگونه GSDMD به عنوان یک جلاد مهم در پاسخ به محرک‌های مختلف که پروتئازهای مختلف را برای جدا کردن GSDMD و القای نتوسیس فعال می‌کنند، عمل می‌کند. نتوزیس غیرکلاسیک یا حیاتی به LPS داخل سلولی نیاز دارد که تجمع التهابی و برش کاسپاز GSDMD را تقویت می‌کند، درحالی‌که نتوزیس کلاسیک به پروتئازهای سرین فعال‌کننده ROS نیاز دارد که GSDMD را نیز می‌شکافند. این امر GSDMD را به عنوان مرکز مرگ سلولی پیش التهابی ایجاد می‌کند.

## مسیرهای سیگنال‌دهی دخیل در نتوزیس

مسیرهای سیگنال‌دهی درگیر در نتوزیس متنوع هستند (شکل ۲-۲) زیرا این مسیرها شامل گیرنده‌های سلول ایمنی مختلف است که می‌تواند توسط سیگنال‌های القا شده توسط میکروارگانیسم‌ها و محرک‌های درون‌زا مانند DAMPها و کمپلکس‌های ایمنی تحریک شود.

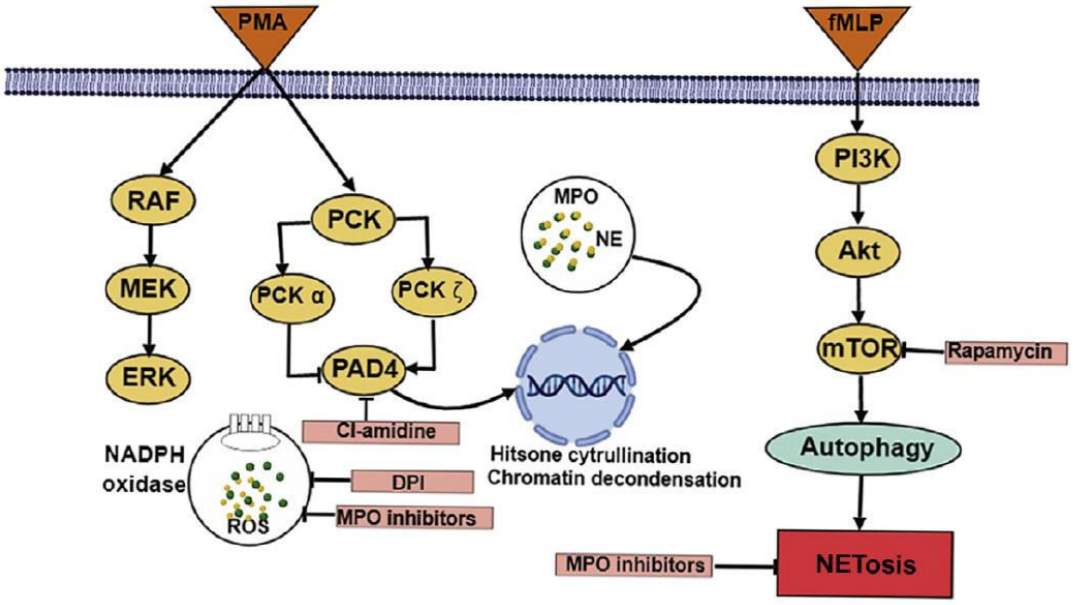
### مسیر سیگنالینگ Rac2

Rac زیرخانواده‌ای از Rho GTPases (گوانوزین تری فسفاتازها) است که پاسخ سلولی را به سیگنال‌های خارج سلولی با کمک پروتئین‌های با وزن مولکولی پایین بسیار حفظ شده که به عنوان سوئیچ های مولکولی عمل می‌کنند، هماهنگ می‌کند. پروتئین‌های Rac بر اساس سطح بیانشان به سه پروتئین بسیار همولوگ طبقه‌بندی می‌شوند: Rael، Rac2 و Rac3، که نقش اصلی را در تنظیم پاسخ به سیگنال‌های التهابی ناشی از نوتروفیل‌ها، از جمله کموتاکسی، بازسازی اسکلت سلولی اکتین و تولید سوپر اکسید توسط NADPH اکسیداز. Rac پس از فعال شدن [باند گوانوزین تری فسفات (GTP)] دو نقش را در فعال‌سازی NADPH ایفا می‌کند که شامل تشکیل کمپلکس اکسیداز و عملکرد به عنوان یک زیر واحد آنزیمی است. Rho GTPase در درجه اول توسط خانواده vav از فاکتورهای تبادل نوکلئوتیدی گوانین (GEFs) با کاتالیز کردن تبادل گوانوزین دی فسفات برای GTP فعال می‌شوند. عوامل پایین دست پروتئین‌های Rae کینازهای فعال شده با p21 (Paks) هستند.

www.takbook.com



پاک ساختار را تغییر می‌دهد، به غشای پلاسمایی منتقل می‌شود، با بخش کاتالیزوری کمپلکس NADPH ترکیب می‌شود و p47 PHOX را فسفریله می‌کند و در نتیجه یک جزء تنظیمی پیچیده برای تولید ROS لازم است. مطالعات روی مسیر سیگنالینگ Rac2 تا حدودی سیگنال‌های نتوزیس را روشن کرده است. در طی این مسیر، فسفوریلاسیون gp9lphox توسط پروتئین کیناز C (PKC) اجازه می‌دهد تا زیرواحدهای سیتوزولی و متصل به غشاء NADPH اکسیداز را به یک مجموعه عملکردی که ROS و به طور خاص یون های سوپراکسید تولید می‌کند، جمع آوری کند. در حالی که نوتروفیل‌های فاقد Rael مقادیر مشابهی از کروماتین NET را مانند نوتروفیل‌های نوع وحشی آزاد می‌کنند که با PMA یا LPS القا می‌شوند، سلول‌های دارای کمبود Rac2 قادر به ایجاد یک کمپلکس آنزیمی عملکردی نیستند و تشکیل NET را به خطر می‌اندازند. علاوه بر این، انتشار NET هم‌چنین نیاز به تبدیل سوپر اکسید به پراکسید هیدروژن و اسید پرکلریک دارد. با این حال، سوپراکسید خود غیرقابل مصرف است، زیرا نوتروفیل‌ها در بیماران مبتلا به CGD با افزودن پراکسید اگزوژن، مسیر نتوزیس را نجات دادند.




**شکل ۲-۲. مکانیسم‌های مولکولی تنظیم‌کننده PMA . نتوزیس یکی از عوامل شناخته شده ایجاد کننده نتوزیس کشنده است. تحت تأثیر آن مسیر Raf MEK ERK و پروتئین کیناز C فعال می‌شوند که منجر به تحریک کمپلکس NADPH اکسیداز و تشکیل ROS می‌شود. PAD4 نیز فعال می‌شود و به سیترولیناسیون هیستون کمک می‌کند. MPO و NE آزاد شده از گرانول‌های آزوروفیل به هسته سلول حرکت می‌کنند، جایی که تراکم بیشتر کروماتین هسته‌ای را آغاز می‌کنند و سپس با پروتئین‌های منشاء گرانول و سیتوپلاسم متصل می‌شوند. ساختاری که در زمان از**

www.takbook.com



**هم‌گسیختگی غشای سلولی تشکیل شده است به فضای خارج سلولی رها می‌شود که منجر به مرگ سلولی می‌شود. مشاهده شده است که فرآیند تبدیل ROS توسط MPO در داخل گرانول‌های نوتروفیل نقش مهمی در تولید NETها ایفا می‌کند. این امر با این واقعیت نشان می‌دهد که این پدیده را می‌توان با استفاده از مهارکننده‌های MPO مهار کرد. راپامایسین مورد استفاده در این مطالعه، mTOR کیناز را مهار می‌کند و به افزایش فعالیت اتوفاژیک کمک می‌کند، بنابراین آزادسازی NETs توسط نوتروفیل‌های تحریک‌شده با fMLP را تسریع می‌کند. MEK، MAPK/ERK کیناز؛ mTOR، هدف مکانیکی راپامایسین. PI3K، phosphoinositide 3-kinase؛ PKC، پروتئین کیناز C، RIPK1، سرین/ترئونین - پروتئین کیناز ۱ برهم‌کنش گیرنده؛ TLR، گیرنده تال مانند. MPO، میلوپراکسیداز؛ fMLP، N-Formylmethionine-leucyl-phenylalanine؛ DPI، diphenyleneiodonium- بازدارنده ROS.**

## مسیر سیگنالینگ Raf/MEK/ERK

آبشار سیگنال‌دهی Ras/Raf/MEK/ERK توسط فاکتورهای رشد و میتوژن‌ها برای انتقال سیگنال از گیرنده‌های خود با جفت کردن سیگنال از گیرنده‌های سطح سلولی به فاکتورهای رونویسی، تنظیم بیان ژن و جلوگیری از آپوپتوزیس استفاده می‌شود. پروتئین‌های Ras متعلق به کلاس GTPaseهای کوچک هستند که باعث انتقال Raf، یک پروتئین کیناز اختصاصی سرین/ترئونین، به غشای سلولی می‌شوند. Raf، MEKl/2 (MAPK/ERK کیناز) را افزایش می‌دهد که یک پروتئین کیناز با ویژگی دوگانه است که ERKl/2 را فعال می‌کند. این ERKl/2 فعال شده چندین سوبسترا را فسفریله می‌کند و فاکتورهای رونویسی مختلف را تنظیم می‌کند که منجر به بیان ژن‌های مختلف می‌شود. مسیر Raf-MEK-ERK با فعال کردن NADPH اکسیداز و تنظیم مثبت پروتئین‌های ضد آپوپتوزیس در تشکیل NET نقش دارد. سیگنالینگ MEK/ERK توسط گیرنده‌های مختلفی ایجاد می‌شود که شامل لیگاند گلیکو پروتئین P-سلکتین ۱ (PSGLl)، گیرنده HMGB برای محصولات نهایی گلیکاسیون پیشرفته (RAGE) و گیرنده کمپلمان ۳ (CR3، TLR2/4، Siglec-14 و FqR). مولکول‌های دخیل در انتقال سیگنال از گیرنده‌ها به اکسیداز NADPH با تجزیه و تحلیل مهار دقیق انجام‌شده در آزمایشگاه کشف شدند. PMA موثرترین و پرکاربردترین فعال کننده نتوسیس، محرک فوری PKC است. نتوسیس ناشی از PMA توسط PMA با القای مسیر سیگنالینگ Raf/MEK/ERK و هم‌چنین Rac2 (یک GTPase کوچک از خانواده Rho) با واسطه مسیر همراه است.

www.takbook.com



## مسیر PI3K/AKT/mTOR

مسیر PI3K/AKT/mTOR یک مسیر تنظیم‌کننده چرخه سلولی است که سیگنال‌ها را به صورت درون سلولی انتقال می‌دهد. بنابراین متابولیسم، تکثیر، بقای سلولی، رشد و آنژیوژنزیس را در پاسخ به سیگنال‌های خارج سلولی افزایش می‌دهد. فسفاتیدیل ۳-کیناز (PI3K) قادر به فسفریله کردن گروه هیدروکسیل موقعیت ۳ حلقه اینوزیتول فسفاتیدیلینوزیتول است. PI3K از دو حوزه تشکیل شده است: یک دامنه کاتالیزوری Pl 10 و یک دامنه تنظیمی P85. فعال شدن PI3K معمولاً در نتیجه تحریک مستقیم از طریق زیر واحد تنظیمی متصل به گیرنده فعال شده یا به طور غیرمستقیم از طریق مولکول‌های آداپتور مانند پروتئین‌های بستر گیرنده انسولین فعال می‌شود. PI3K هم‌چنین می‌تواند توسط یک پروتئین RAS متصل به GTP فعال شود. در مسیر PI3K-AKT، گروه فسفات موقعیت ۳ PIP3 می‌تواند به هر دو پروتئین PDKl و AKT متصل شود و پروتئین AKT را در غشای پلاسما جذب کند، و به PDKl اجازه دسترسی و فسفریله کردن T308 در «حلقه فعال‌سازی» را می‌دهد که منجر به فعال‌سازی PKB/Akt جزئی می‌شود. سپس فسفوریلاسیون Akt در S473 در موتیف آبگریز کربوکسی ترمینال، یا توسط mTORC2 یا DNA-PK، فعالیت کامل Akt را تحریک می‌کند. Akt هم‌چنین پروتئین کیناز B نامیده می‌شود، یک پروتئین کیناز اختصاصی سرین/ترئونین است که نقش کلیدی در فرآیندهای سلولی متعدد ایفا می‌کند. پس از فعال شدن، Akt از طریق فعال‌سازی فسفوریلاسیون یا سرکوب طیف وسیعی از پروتئین‌های دخیل در رشد سلولی، تکثیر، تحرک، چسبندگی، نئوواسکولاریزاسیون و مرگ، عملکرد خود را تنظیم می‌کند.

PI3K هم‌چنین برای نتوزیس مورد نیاز است که در اتوفاژی نیز نقش دارد که به این آنزیم نیز بستگی دارد. مشابه این، پرومیلوسیت‌های فاقد پروتئین مرتبط با اتوفاژی، ATG7، کاهش کمی در انتشار NET نشان دادند. از نظر قیاس، یک نیاز برای هدف مکانیکی راپامایسین (mTOR)، که اتوفاژی را سرکوب می‌کند نیز در نتوزیس دخیل است. با این وجود، واکوئل‌های $LC3B^{+}$ که شبیه اتوفاگوزوم‌ها هستند در نوتروفیل‌هایی که تحت نتوزیس قرار می‌گیرند، مشاهده شده‌اند. سرانجام، ROS به عنوان القای اتوفاژی شناخته شده است، که به نوبه خود برای حفظ انفجار ROS لازم است و هم‌چنین ممکن است به تحمل استرس ناشی از ROS کمک کند.

www.takbook.com



## سایر کینازهای دخیل در سیگنال‌دهی تله خارج سلولی نوتروفیل

در طول نتوزیس، نفوذپذیری غشای پلاسمایی به صورت گام به گام سازماندهی شده اتفاق می‌افتد و نه در نتیجه گسترش کروماتین که باعث اختلال فیزیکی غشای پلاسمایی می‌شود. این مشاهدات با درگیری احتمالی نتوزیس و مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده مطابقت دارد. مطابق با این مشاهدات، القاکننده‌های NET، مانند کریستال‌های اورات مونوسدیم (MSU)، نکروپتوز و نوتروفیل‌های فاقد سرین/ترئونین - پروتئین کیناز ۱ (RIPKl) و RIPK3 که دو کیناز درگیر در نکروپتوز هستند، برهم‌کنش گیرنده را تحریک می‌کنند. برای تشکیل NETها بدون تغییر انفجار ROS، که نشان می‌دهد این آنزیم‌ها در پایین دست یا به موازات مسیر ROS عمل می‌کنند. با این حال، نقش این کینازها در نتوسیس توسط دیگران به چالش کشیده شده است و شواهد بیشتری برای تایید نقش و نحوه عمل آن‌ها مورد نیاز است.

## استراتژی‌های ضد میکروبی تله‌های خارج سلولی نوتروفیل

مقدار قابل توجهی فراوانی از میکروب‌ها ظاهراً باعث ایجاد NETها می‌شوند (جدول ۲-۱). این مولکول‌های محرک NET شامل اجزای مولکول‌های سطح سلولی باکتری مانند LPS، اسید لیپوتیکوئیک و محصولات تجزیه آن‌ها هستند. از باکتری‌ها و قارچ‌های بالقوه القاکننده NET، آن‌هایی که آشکار هستند عبارتند از: استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس اسپ، هموفیلوس آنفولانزا، کلبسیلا پنومونی، لیستریا مونوسیتوژنز، مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، شیگلا فلکسونریوس، نیگلولوژیلوس، شیگلا فلکسنری‌گلوسیلانوس، آستین‌گلوسیتوز، شیگلا فلکسنری‌ژیلوس و آسپیلوس. علاوه بر این، پاتوژن‌هایی مانند یرسینیا و اعضای میکروبیوم دهان، از جمله Porphyromonas gingivalis نیز باعث ایجاد NET می‌شوند. NETها به عنوان تله‌های شبکه مانند سلول‌هایی که در طول عفونت منفجر می‌شوند، می‌توانند طیف وسیعی از میکروب‌ها از جمله باکتری‌ها، قارچ‌ها و تک‌یاخته‌ها را مهار کرده و از بین ببرند و بنابراین از گسترش پاتوژن‌های میکروبی جلوگیری کرد. با این حال، قابلیت‌های کشتن قابل بحث است زیرا برخی از آزمایش‌ها نشان دادند که NETها پس از درمان با DNases، بلاستوزپورهای S. aureus و C. albicans را آزاد می‌کنند که نشان می‌دهد NETها ممکن است فقط ساختارهایی را به دام بی‌اندازند و ضدمیکروبی نیستند.

www.takbook.com



جدول ۲-۱. القاگرهای مختلف از مسیرهای سیگنال‌دهی متفاوتی در نتوزیس استفاده می‌کنند.

**TABLE 2.1** Different inducers employ different signaling pathways in NETosis.

| Inducing agent | | Receptors involved in activation | Intermediate proteins involved in signal transduction | Pathway |
|---|---|---|---|---|
| Microbes | Bacteria | Siglec-14, TLR4 | PAD4, NOX2, MPO, NE | ND |
| | Viruses | TLR7, TLR8 | ND | ND |
| | Fungi | CR3, Dectin 2 | MPO, NOX2, NE | ND |
| | Parasites | TLR2, TLR4 | ND | NOX2 independent |
| Compounds or complexes | Crystals | ND | MPO, RIPK1, RIPK3, NOX2, NE | PAD4 independent |
| | PMA | NA | RIPK1, RIPK3, MEK, ERK, NOX2, AKT, PI3K, mTOR, ATG7, MPO, NE, DEK | PAD4 independent |
| | Ionomycin | ND | mitoROS, NE, PAD4, SK3, PKC7, | ERK, NOX2 independent |
| | LPS and/or platelets | TLR2, TLR4, PSGL1, RAGE | HMGB1, NE | NOX2 independent |
| | Immune complexes | FcγRIIIb | mitoROS | NOX2 independent |

با توجه به داده‌ها، نوتروفیل‌ها به طور انتخابی NETها را در پاسخ به پاتوژن‌های بزرگ مانند C. albicans رشته‌ای آزاد کردند. جالب توجه است که شکل مخمری C. albicans یا تک باکتری نمی‌تواند نتوسیس را القا کند. فاگوسیتوز با واسطه دکتین-۱ به عنوان یک سنسور اندازه میکروبی عمل می‌کند و با کاهش انتقال NE به هسته از انتشار NET جلوگیری می‌کند. علاوه بر کشتن مستقیم میکروب‌ها، NETها هم‌چنین با غیرفعال کردن «عوامل حدت» میکروبی که عملکرد سلول میزبان را تغییر می‌دهند، عمل می‌کنند. فاکتورهای حدت S. flexneri، Salmonella typhimurium و Yersinia enterocolitica به طور خاص توسط NE مرتبط با NET بریده می‌شوند. سایر دسته‌های میکروب‌ها توسط پروتئازهای سرین کاتپسین G و PR3 که فاکتورهای حدت این دسته از میکروب‌ها را از بین می‌برند، از بین می‌روند. چندین پروتئین بازدارنده میکروب مانند آنزیم‌ها، پپتیدهای ضد میکروبی

www.takbook.com



(AMPs)، کالگرانولین و هیستون‌ها در NETها وجود دارند. عملکرد ترکیبی چندین مؤلفه با فعالیت میکروب‌کشی NETها ناشی از غلظت محلی بالای واسطه‌ها در سطوح NETها افزایش می‌یابد.

اثر باکتری‌کشی بر استافیلوکوکوس اورئوس با واسطه NET به فعالیت MPO بستگی دارد. به طور مشابه، فعالیت ضد قارچی NETها به کالگرانولین کاتیون کیلیت روی اختصاص داده شده است که برای رشد قارچ مورد نیاز است. هیستون‌ها می‌توانند رشد میکروبی را بسیار ماهرانه محدود کنند و آنتی‌بادی‌ها علیه هیستون‌ها از فعالیت میکروبی‌کشی با واسطه NET جلوگیری می‌کنند. به دام افتادن میکروب‌ها به دلیل برهم‌کنش‌های الکترواستاتیکی بین سطح باکتری با بار مثبت و الیاف کروماتین با بار منفی رخ می‌دهد. این به دام افتادن را می‌توان توسط پاتوژن‌های کپسوله شده یا آن‌هایی که می‌توانند بار سطحی خود را تغییر دهند اجتناب کرد. نکته مهم این است که با کمک نوکلئازها، چندین باکتری می‌توانند NETها را تجزیه کرده و از گیر افتادن با واسطه NET فرار کنند که شامل پاتوژن گرم منفی Vibrium cholera و باکتری‌های گرم مثبت استرپتوکوکوس پنومونیه، S. pyogenes، Yersinia sp.، Streptococcus agalactiae، Streptococcus suis، S. aureus و Aeromonas hydrophila. این امر بر اهمیت نوکلئازها به عنوان عوامل بیماریزا تأکید می‌کند.

گونه‌های مختلف باکتری‌ها، ویروس‌ها، قارچ‌ها و انگل‌ها با انواع فرآیندهای التهابی با واسطه NET مرتبط هستند. شرح مختصری از فعالیت ضد میکروبی NET از نظر گونه‌ای بیشتر ارائه شده است.

## باکتری

### استافیلوکوکوس اورئوس

استافیلوکوکوس اورئوس که عمدتاً در اپیتلیوم سنگفرشی مرطوب حفره بینی قدامی در بدن انسان قرار دارد، یک باکتری گرم مثبت است که اغلب به دلیل توانایی اش در فرار از پاسخ‌های ایمنی و مقاومت در برابر درمان آنتی بیوتیکی به عنوان "فوق العاده باکتری" شناخته می‌شود. این بیماری باعث پاتولوژی هایی مانند باکتریمی، اندوکاردیت، استئومیلیت

www.takbook.com



و گاستروانتریت می‌شود که با پاسخ التهابی شدید همراه است. استافیلوکوکوس اورئوس در ابتدا به عنوان یک القاء کننده نتوزیس در سنجش‌های کلاسیک انجام شده توسط برینکمن و همکاران (۲۰۰۴) استفاده شد. پیلسزک و همکاران (۲۰۱۰) کشف کردند که استافیلوکوکوس اورئوس منجر به یک نتوزیس بسیار سریعتر می‌شود که مستقل از ROS بود، که آن‌ها آن را «نتوزیس حیاتی» نامیدند، هنگام القای تشکیل NET و مطالعه مکانیسم‌های مولکولی آن. استافیلوکوکوس اورئوس با ترشح فاکتورهای ویروسی متعددی از جمله پانتون - والنتین لوکوسیدین (PVL)، لوکوتوکسین DE، لوکوتوکسین GH (LukGH)، پپتیدهای N ترمینال ArgD و گاما همولیزین که از آن‌ها LukGH و PVL NETها را از طریق یک مکانیسم مستقل از مسیر اکسیداتیو تحریک می‌کند. تشکیل NET با تهاجم باکتریایی که پاتوژن‌ها را به دام می اندازد و مانع از گسترش آن‌ها می‌شود، ترویج می‌شود. ماکروفاژها از طریق فاگوسیتوز و تولید سیتوکین از این پاسخ ایمنی ذاتی حمایت می‌کنند. بر اساس گزارش‌ها، استافیلوکوکوس اورئوس ممکن است از طریق این NETها یک اثر سیتوتوکسیک بر ماکروفاژها داشته باشد، زیرا انکوباسیون NET با نوکلئازها و آدنوزین سنتازهای مشتق شده از این باکتری باعث تشکیل دئوکسی آدنوزین می‌شود که قادر به القای مرگ سلولی است.

## استرپتوکوک پنومونیه

به طور معمول می‌توان آن را در دستگاه تنفسی انسان یافت، S. pneumoniae یک باکتری گرم مثبت است که نقش آن در القای NET به خوبی مشخص شده است. در مقایسه با استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس پنومونیه می‌تواند فاکتورهای حدت مانند endA تولید کند که DNA را هضم می‌کند و به آن اجازه می‌دهد حتی پس از گیر افتادن باکتری‌ها در آن از NETها فرار کند. این امر باعث گسترش باکتری‌ها از دستگاه تنفسی فوقانی به ریه‌ها و سپس به جریان خون می‌شود. نتوزیس هم‌چنین در پیشرفت و عوارض بیماری‌های تنفسی ناشی از عفونت‌های ثانویه مانند بیماری مزمن انسدادی ریه، ذات‌الریه و آمفیزم همراه بوده است. نوتروفیل‌ها در هنگام جذب بیش از حد به بافت ریه در پاسخ به عفونت، میکروسیرکولاسیون را مختل کرده و نتوزیس بیشتری را در آلوئول‌های ریوی القا می‌کنند. علاوه بر این، بیماران مبتلا به اختلال عملکرد ریوی سطوح بالایی از DNA خارج

www.takbook.com



سلولی را نسبت به بیماران مبتلا به بیماری خفیف ریه نشان می‌دهند، که نشان می‌دهد NETها در انسداد جریان هوا شرکت می‌کنند و پاسخ‌های التهابی مزمن را گسترش می‌دهند.

## اشرشیاکلی

اشریشیاکلی فراوان‌ترین بی‌هوازی اختیاری در میان میکروبیوتای میزبان است، یک باکتری گرم منفی که در هنگام تولد در دستگاه گوارش انسان ساکن است. این بیماری در آسیب‌شناسی‌هایی مانند آنتریت، عفونت‌های ادراری، مننژیت و سپسیس نقش داشته است. در نهایت، کامباس و همکاران (۲۰۱۲) دریافتند که در سرم مبتلا به E. coli بیماران مبتلا به شوک سپتیک، هنگامی که نوتروفیل‌ها تحریک می‌شوند، NETها به طور قابل توجهی القا می‌شوند. این احتمالاً از طریق تحریک TLRها یا گیرنده‌های مکمل برای C3 یا C5a باشد. چندین مطالعه گزارش می‌دهند که NETها و اجزای آن‌ها سپتی سمی را تشدید می‌کنند زیرا تخریب آن‌ها با DNaseها در کنار درمان آنتی بیوتیکی آسیب بافت را کاهش می‌دهد. نوتروفیل‌ها در تمایز بین LPS از پاتوژن‌ها و سویه‌های مختلف به منظور القای تشکیل NET و آزادسازی فاکتور بافتی مهارت دارند، ترومبوژنی که در پاسخ‌های التهابی سیستمیک که با شروع سیستم انعقادی که فرآیندهای سپتیک را مشخص می‌کند، درگیر شده است. سلول‌های دستگاه ادراری قادر به از بین بردن عفونت‌های ناشی از E. coli نیستند زیرا غلظت AMP، LL37 بالا است. با این وجود، LL37 به طور قابل توجهی کلونیزاسیون باکتری‌ها را کاهش می‌دهد زیرا با NETs مرتبط است و از تشکیل و پایداری آن‌ها پشتیبانی می‌کند.

## کلستریدیوم دیفیسیل

کلستریدیوم دیفیسیل سویه‌ای از باکتری است که باعث اسهال و کولیت کاذب غشایی در انسان می‌شود، که بیشتر به دلیل سوء مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها است که به شدت به میکروبیوتای ساکن میزبان آسیب می‌رساند و منجر به دیس بیوسیس می‌شود. C. dyficile جزء طبیعی میکروبیوتای انسانی است که در مقایسه با سایر گونه‌های ساکن به دلیل رقابت با آن گونه‌ها، نمی‌تواند بیش از حد تکثیر شود. برعکس، تغییر میکروبیوتا باعث افزایش در دسترس بودن مواد مغذی همراه با تولید متوسط اسیدهای صفراوی ثانویه می‌شود که امکان

www.takbook.com



کلونیزاسیون C. dyficle روده را فراهم می‌کند. C. duficile باعث از بین رفتن اتصالات محکم می‌شود و می‌تواند از طریق توانایی انتروتوکسین‌های خود جابجا شود. پس از تماس با سلول‌های بافت لنفوئیدی مرتبط با روده، تولید سیتوکین‌های پیش‌التهابی افزایش می‌یابد و کموکاین‌هایی مانند اینترلوکین ۱-بتا (IL-1β)، IL-8 و CXCL5 برای به‌کارگیری نوتروفیل‌ها ارتقا می‌یابند. نوتروفیل‌ها نه تنها عملکرد سموم میکروبی را با ترشح AMP و الاستاز کاهش می‌دهند، بلکه NETها را نیز خارج می‌کنند، که نواحی آسیب‌دیده اپیتلیوم روده را می‌پوشاند تا به طور مؤثر انتشار C. djyficile را خنثی کند.

## شیگلا فلکسنری

شیگلا فلکسنری یک باکتری آنتروپاتوژن است که عفونت آن ممکن است باعث اسهال خونی در میزبان شود. این یک باکتری گرم منفی است که معمولاً از طریق خوردن غذا و نوشیدنی‌های آلوده به دست می‌آید. شیگلا می‌تواند لومن روده را در سراسر سلول‌های M حرکت دهد. هنگامی که وجود دارد، سلول‌های اپیتلیال را آلوده می‌کند و ممکن است به طور موازی گسترش یابد. در نتیجه فاکتور هسته‌ای کاپا B (NF-$_k$B) در سلول‌های آلوده فعال می‌شود که IL-8 را تولید می‌کنند تا نوتروفیل‌ها را به بافت‌های آلوده بکشانند، جایی که الاستاز مشتق از نوتروفیل فاکتورهای حدت میکروبی را تخریب می‌کند. همان‌طور که توسط برینکمن و همکاران (۲۰۰۴) گزارش شده است، S. jlexneri در داخل NETها در شرایط آزمایشگاهی به دام افتاده است و دارای توانایی الاستاز مرتبط با DNA برای تخریب فاکتورهای ویروس‌زایی IcsA و IpaB است. هم‌چنین نشان داده شد که در مناطق با نفوذ شدید نوتروفیل، انتقال نوتروفیل در شرایط آزمایشگاهی برای تهاجم و پاتوژنز شیگلا مورد نیاز است.

## سالمونلا تیفیموریوم

سالمونلا، جنسی از باکتری‌های درون سلولی بی‌هوازی اختیاری و گونه‌های زیادی از این جنس را می‌توان در میکروبیوتای روده یافت. استافیلوکوکوس تیفی موریوم عامل اصلی گاستروانتریت عفونی است. پس از تسخیر در روده، می‌تواند وارد انتروسیت‌ها، سلول‌های M، سلول‌های دندریتیک (DCs) و در نهایت به ماکروفاژها پس از رسیدن به زیر مخاط شود.

www.takbook.com



معمولاً در داخل فاگوزوم‌ها تکثیر می‌شود، جایی که ممکن است چندین عامل بیماری‌زا مانند چسبنده‌ها، تاژک‌ها، فیمبریاها و T3SS را بیان کند. با استفاده از یک SOD معروف به SodCI، هم‌چنین قادر به مقابله با فعالیت ROS در فاگوزوم لکوسیت‌ها است.

برینکمن و همکاران (۲۰۰۴) نشان داده‌اند که S. typhimurium هم‌چنین NETها را تحریک می‌کند. آن‌ها هم‌چنین نشان داده‌اند که به طور موثر توسط اجزای NETها از جمله پروتئین‌های دانه‌ای و هیستون H2A به دام افتاده و حذف می‌شود.

## یرسینیا انتروکولیتیکا

Y. enterocolitica عامل زمینه‌ای یرسینیوز، انتریت حاد و انتروکولیت است. اپیتلیوم را ضمیمه می‌کند و به تکه‌های Peyer منتقل می‌شود و با کاهش اکلودین و کلودین ۵ و ۸ بر اتصالات محکم تأثیر می‌گذارد. هر سه گونه بیماریزای Yersinia، یعنی Y. pseudotuberculosis، Y. enterocolitica و Y. pestis، عمدتاً هدفشان انتقال پروتئین‌های مؤثر (معروف به Yops) به نوتروفیل‌ها، ماکروفاژها و DCها است. علاوه بر این، Y. pestis از انفجار اکسیداتیو نوتروفیل‌ها به منظور حمایت از بقای درون سلولی خود با استفاده از پروتئین‌های Yops جلوگیری می‌کند.

مولرهرم و همکاران (۲۰۱۵) ثابت کردند که سروتیپ های ۰:۳، ۰:۸، و ۰:۸ از Y. enterocolitica، NETها را در شرایط آزمایشگاهی ظرف ۱ ساعت پس از انکوباسیون القا می‌کنند. با این حال، با افزایش زمان، القای NET کاهش یافت و نشان داد که نوکلئازهای وابسته به کلسیم و منیزیم ممکن است مانع نتوسیس شوند. با استفاده از پروتئین خاصی به نام invasin,Y. سل می‌تواند اپیتلیوم روده را بشکند. Invasin یک پروتئین بسیار چسبنده است که واسطه اتصال سلول‌های M به اینتگرین‌های β1 در Y. pseudotuberculosis است، اگرچه این اتصال باعث تولید ROS و تشکیل NET می‌شود.

## مایکوباکتریوم توبرکلوزیس

M. tuberculosis یک باکتری هوازی اجباری است که باعث سل می‌شود. در میان بهترین پاتوژن‌های داخل سلولی با توجه به تکنیک‌های خود برای جلوگیری از سیستم ایمنی بدن برجسته است. در اصل، سیستم تنفسی را آلوده می‌کند، اما ممکن است اندام‌های دیگر را

www.takbook.com



نیز تحت تاثیر قرار دهد. پوشش سلولی آن از چسبان تشکیل شده است و در مقایسه با سایر باکتری‌های بیماری‌زا، سم تولید نمی‌کند. برای تکثیر و انتشار در سراسر ارگانیسم میزبان، از فاگوسیت‌ها استفاده می‌کند. در کشت همزمان با نوتروفیل‌های ژنوتیپ‌های مختلف، نشان داده شده است که NETs را القا می‌کند. اگرچه NETها به طور مؤثری انتشار مایکوباکتری‌ها را به دام می‌اندازند و مانع از آن می‌شوند، اما توسط اجزای مشتق از NET از بین نمی‌روند. M.tuberculosis آپوپتوزیس نوتروفیل‌ها را تقویت می‌کند تا آن‌ها را از ایجاد گرانولوم به عنوان مکانیزم فرار ایمنی، که ساختارهایی متشکل از سلول‌های ایمنی در پاسخ به عفونت اولیه هستند، متوقف کند تا این باسیل را مهار کند. افروسیتوز ماکروفاژی نوتروفیل‌های آپوپتوزیس دارای اثر پیش التهابی در پاسخ ایمنی است. در سلول‌های آپوپتوتیک و نکروزه و در DNA درون NETها، پروتئین شوک حرارتی ۷۲ یافت شده است که نقش ضروری را در از بین بردن M.tuberculosis ایفا می‌کند.

## ویبریوکلرا

این گونه به دلیل بیماری‌های همه‌گیر وبا که توسط سروگروه‌های ۰۱ و ۰۱۳۹ تحریک می‌شود، به طور گسترده‌ای شهرت دارد. Vibrio cholerae یک باکتری گرم منفی است و به طور کلی در دستگاه گوارش انسان و در محیط های آبی یافت می‌شود. به نظر می‌رسد که عفونت‌ها معمولاً به دلیل مصرف غذاهای دریایی و آب آلوده ایجاد می‌شوند. V.cholerae با رسیدن به روده، سم وبا و هم‌چنین چسبان، هماگلوتینین، پروتئازها و همولیزین‌ها را ترشح می‌کند. در نهایت، V. cholerae جذب نوتروفیل به روده و تولید سایتوکاین‌ها را تحریک می‌کند. گزارشاتی وجود دارد که پس از تماس با نوتروفیل‌ها در شرایط آزمایشگاهی، V.cholerae NETs را القا می‌کند. با این حال، نوکلئازهای Dns و Xds توسط V.cholera به عنوان یک مکانیسم فرار ترشح می‌شوند که به آن اجازه می‌دهد از NETها فرار کند، بنابراین به آن اجازه می‌دهد روند عفونی را ادامه دهد. بنابراین عفونت V.cholerae یک مکانیسم حفاظتی در NETها ندارد.

www.takbook.com



## لاکتوباسیلوس رامنوسوس

لاکتوباسیلوس رامنوسوس یک باکتری گرم مثبت است که در درجه اول به دلیل ظرفیت‌های آن برای بازگرداندن سد روده مورد مطالعه قرار گرفته است، از این رو به عنوان یک پروبیوتیک ضروری برای میکروبیوتا در نظر گرفته می‌شود. این می‌تواند به اپیتلیوم روده بچسبد و اسید معده و صفرا را تحمل کند. آسیب اپیتلیال ناشی از کولیت اولسراتیو و بیماری کرون (CD) را کاهش می‌دهد. L. rhamnosus، TLRها را بر روی سلول‌های ایمنی تحریک می‌کند تا پاسخ ایمنی و میکروبیوت روده را تعدیل کند. نشان داده شده است که با القای سایر میکروب‌ها (S. aureus و E. coli) یا مواد شیمیایی (فوربول-۱۲- میریستات-۱۳- استات، که بیشتر به عنوان PMA شناخته می‌شود)، L.rhamnosus تشکیل NET را احتمالاً به دلیل آنتی اکسیدان آن مهار می‌کند. فعالیت و پروتئین‌های ترشح شده هنوز ناشناخته است.

## ویروس

### آنفولانزا

ویروس آنفولانزای A یک ویروس کشنده است که به دلیل مرگ بیش از ۵۰ میلیون نفر در سال ۱۹۱۸ شناخته شده است و اخیراً برای همه‌گیری‌های سال ۲۰۰۹ که عامل مرگ ۱۸۰۰۰ نفر در سراسر جهان بوده است. آسیب‌شناسی آنفولانزا با جذب بیش از حد نوتروفیل‌ها به ریه‌ها توصیف می‌شود که توسط گیرنده کموکاین ۲ (CXCR2) کمک می‌کند. NETهای تحریک شده با آنفلوانزا به PAD4 وابسته هستند. از طریق انسداد مسیر PKC a-Defensin-I مرتبط با NETها از تکثیر ویروس جلوگیری می‌کند. جزء دیگری که ویروس آنفولانزای A را برای NETهای ضد باکتری تحریک می‌کند، LL37 است که نشان داده شده است تولید NET را در پاسخ به این پاتوژن در شرایط آزمایشگاهی افزایش می‌دهد. علاوه بر این، تجمع و خنثی سازی ویروس نیاز به هیستون‌های H3 و H4 غنی از آرژنین دارد. جوجه‌کشی ویروس آنفولانزای A با H4 کاهش عمده‌ای را در تکثیر ویروس در سلول‌های اپیتلیال نشان داده است. در مقابل، H4 هنگامی که با سویه همه‌گیر HINI انکوبه شد از عمل خارج شد، که ممکن است بر اهمیت آن در پاسخ به این پاتوژن تأکید کند.

www.takbook.com



مضرات انفیلتراسیون نامتناسب نوتروفیل شامل آسیب به بافت‌های تسهیل شده توسط AMPs و NETهای گسترده در مویرگ‌های آلوئولی است.

## ویروس دنگی (DENV)

این یک ویروس RNA تک رشته‌ای است که دارای چندین سروتیپ دنگی با پیامدهایی از تب خفیف تا تب شدید دنگی است که قبلاً به عنوان تب خونریزی‌دهنده دنگی شناخته می‌شد. متعلق به خانواده Flaviviridae است. در سال‌های اخیر بروز عفونت‌های دنگی افزایش یافته است. بنابراین، درک مکانیسم‌های دفاع میزبان برای مبارزه با این پاتوژن ضروری است. با به دام انداختن ویروس‌ها در ساختار آن‌ها، NETها می‌توانند عفونت‌ها را مهار کنند. با این حال، گزارش شده است که به جای القای NETها، DENV-2 آن‌ها را در شرایط آزمایشگاهی مهار می‌کند. همان‌طور که توسط مورنو - آلتامیرانو و همکاران (۲۰۱۵) مشاهده شد، کاهش ۸۰ درصدی در تشکیل NET تحریک شده با PMA توسط نوتروفیل‌ها به دنبال انکوباسیون قبلی با DENY -1 وجود دارد. این مهار به دلیل اختلال در یک نیاز متابولیکی اصلی برای آزادسازی NET ایجاد شد که جذب گلوکز با واسطه glut-I است.

## ویروس نقص ایمنی انسانی ۱

ویروس نقص ایمنی انسانی ۱ (HIV -1) یک ویروس موثر بر سیستم ایمنی است. در حال حاضر بیش از ۳۵ میلیون نفر مبتلا هستند که هر سال حدود ۲ میلیون نفر به این بیماری مبتلا می‌شوند. گزارش شده است که گیرنده ورود ویروس CD4 است، همراه با CCR5 و CXCR4، که نه تنها عفونت سلول‌های CD4 T بلکه سلول‌های ارائه‌دهنده آنتی‌ژن مانند ماکروفاژها و DCs را نیز امکان پذیر می‌کند. با این حال، سلول‌های T فعال شده که در آن‌ها تکثیر ویروسی به سرعت و کارآمد انجام می‌شود، بیشتر سرم را تولید می‌کنند. مسیرهای TLR7 و TLR8 به شناسایی اسیدهای نوکلئیک مشتق از HIV- I در نوتروفیل‌ها کمک می‌کنند. متعاقباً آن‌ها ROS را به منظور تحریک تشکیل NET آزاد می‌کنند. از طریق عملکرد MPO و a-defensinها، که به هر دوی آن‌ها فعالیت ضد ویروسی نسبت داده شده است، ساختارهای NET ممکن است HIV را به دام بیندازند، نگه دارند و از بین ببرند.

www.takbook.com



HIV، به عنوان یک مکانیسم فرار ایمنی، تولید IL-10 توسط DCها را افزایش می‌دهد، بنابراین از انتشار ROS و NET جلوگیری می‌کند.

## ویروس سینسیشال تنفسی

ویروس سنسیشیال تنفسی (RSV) یکی از مهم‌ترین عفونت‌های کودکان و علت اصلی بستری شدن در بیمارستان در نوزادان ۱ ساله است. RSV باعث برونشیت حاد، ادم مخاطی و زیر مخاطی و انسداد مجرا توسط بقایای سلولی تشکیل شده از سلول‌های اپیتلیال، ماکروفاژها، رشته‌های فیبرین و موسین می‌شود. با آلوده کردن DCها، RSV ظرفیت ارائه آنتی‌ژن آن‌ها را برای فعال کردن سلول‌های T کاهش می‌دهد. همان‌طور که در نمونه‌های مایع لاواژ برونکوآلوئولار از بیماران مبتلا به بیماری شدید دستگاه تنفسی تحتانی ناشی از RSV نشان داده شده است، RSVها ممکن است با تحریک نوتروفیل‌ها، NETها را در شرایط آزمایشگاهی آزاد کنند. به دلیل تشکیل NET از انتشار RSV جلوگیری می‌شود، اما این NETها قادر به کشتن ویروس نیستند. علاوه بر این، توسط مسیر TLR4، پروتئین F RSV نیز قادر به القای NET است. وجود NETs ممکن است علائم التهابی را تشدید کند و انسداد مجرا را با ساختارهای متشکل از موکوس و DNA علیرغم این‌که به عنوان مخازن ویروسی عمل می‌کند، افزایش دهد.

## قارچ‌ها

### کاندیدا آلبیکنس

C.albicans معمولاً فقط در افراد دارای نقص ایمنی، مانند بیماران تحت درمان با آنتی‌بیوتیک یا با کاتتر ورید مرکزی، بیماران مبتلا به پانکراتیت یا نارسایی کلیوی، و در بیمارانی که پس از جراحی دستگاه گوارش هستند، باعث بیماری می‌شود. اما معمولاً در افراد سالم مستعمره مخاط، پوست و حفره دهان است، تبدیل مورفولوژیکی مخمر به هیف، همان‌طور که توسط C.albicans نشان داده شده است، چندین عامل حدت مانند Als و Ssa invasins که به عنوان پاتوژن‌های مهاجم عمل می‌کنند. شناسایی C.albicans توسط سلول‌های اپیتلیال و ماکروفاژها، کموکاین‌هایی را آزاد می‌کند که نوتروفیل‌ها را جذب می‌کند. نوتروفیل‌ها با آزاد کردن NETها به صورت مخمر یا هیف، می‌توانند C. albicans را

www.takbook.com



به دام بیاندازند و از بین ببرند. برای موفقیت در پاسخ سریع نتوسیس، β-گلوکان روی هیف‌ها باید توسط CR3 شناسایی شود و فیبرونکتین، جزء ماتریکس خارج سلولی، باید وجود داشته باشد. این عناصر برای تجمع سلولی homotypic مورد نیاز هستند که توسط NETها پشتیبانی می‌شوند، اما مستقل از تولید ROS هستند.

## آسپرژیلوس فومیگاتوس

در انسان سالم A.fumigatus بخشی از میکروبیوتای انسان است. این بیماری آسپرژیلوز تهاجمی را در افراد سرکوب شده سیستم ایمنی ایجاد می‌کند و عامل عفونت قارچی پیشرو در بیماران مبتلا به CGD از نظر شیوع و میزان مرگ و میر است. استنشاق اسپورها سلول‌های سیستم ایمنی را آلوده می‌کند که به جای از بین رفتن، با ماندن در دستگاه تنفسی با مورفولوژی تغییر یافته از مخمر به هیف خاتمه می‌یابد و ریه‌ها را آلوده می‌کند و باعث ذات‌الریه و عفونت سایر اندام‌ها می‌شود. این ماده مهاجم‌هایی شبیه به C.albicans تولید می‌کند که به آن اجازه می‌دهد به سلول‌های میزبان بچسبد. آزاد شدن NETها پس از القای A.fumigatus در شرایط آزمایشگاهی مستلزم فعال‌سازی NOX است. علاوه بر این، حذفp46(-/-) در موش‌ها از تشکیل NET جلوگیری می‌کند. حتی اگر NETها برای دستگیری و از بین بردن هیف‌های A.fumigatus ضروری هستند، این هاگ‌ها به عنوان Rod A موجود در دیواره سلولی هاگ ایجاد نمی‌شوند.

## کریپتوکوکوس spp

کریپتوکوکوس نکفورمانس یک مخمر بیماری‌زا است که باعث بیماری‌هایی مانند کریپتوکوکوز و مننژوانسفالیت می‌شود. عفونت پس از تنفس اسپورها که در آن وارد فضای آلوئولی می‌شوند، تا زمانی که بی‌ثباتی ایمونولوژیک رخ نمی‌دهد، خاموش می‌مانند. یک پلی ساکارید کپسولی موجود در C.necformans توانایی تنظیم سیستم ایمنی میزبان را اعطا می‌کند. به طور خاص، می‌تواند تولید NETها را محدود کند. کپسول‌های موجود در سویه‌هایی که گلوکورونوکسیلومانان (GXM) و Galactoxylomannan در نوتروفیل‌ها را در بر می‌گیرند، حتی پس از تحریک با PMA، تولیدکنندگان مؤثری از ROS یا NETs نبودند. پس از انکوباسیون نوتروفیل‌ها با سویه‌های بدون GXM کپسولی، NETها به طور موثر تولید

www.takbook.com



شدند. با این حال، تولید ROS مورد توجه قرار نگرفت. بنابراین GXM کپسولی با بهبود حدت، مقاومت در برابر NETها را واسطه می‌کند. در نهایت AMPهای مرتبط با NET، مانند الاستاز، MPO، کلاژناز و هیستون‌ها، دارای فعالیت میکروبی برای از بین بردن این پاتوژن هستند.

## انگل‌ها

### پلاسمودیوم فالسیپاروم

پلاسمودیوم فالسیپاروم عامل اصلی مالاریا است که به پالودیسم معروف است. این بیماری به شدت کودکان زیر ۵ سال را تحت تاثیر قرار می‌دهد که نشان‌دهنده ۹۰ درصد مرگ و میرهای مرتبط با این بیماری است. مالاریا یک بیماری ناقل خون است که توسط پشه‌ها منتقل می‌شود. پلاسمودیوم sp. با آلوده کردن گلبول‌های قرمز، سرکوب گلبول‌های قرمز و منجر به کم‌خونی، باعث تولید سیتوکین‌های التهابی می‌شود. تهاجم توسط پروتئین‌ها بر روی گلبول‌های قرمز آسیب‌دیده تسهیل می‌شود که چسبندگی آن‌ها را به اندوتلیوم عروقی موجود در بافت و اندام‌ها تحریک می‌کند و باعث واکنش التهابی و انعقاد می‌شود. این فرآیند عفونت باعث آسیب عروقی، ساییدگی سلول‌های اندوتلیال و فعال شدن پلاکت‌ها، مونوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها می‌شود. NETها را می‌توان در گردش خون کودکان آلوده به P.falciparum با چسبندگی گلبول‌های قرمز و انگل‌های P. فالسیپاروم یافت. علاوه بر این، آنتی‌بادی‌های a-dsDNA کشف‌شده در این بیماران ممکن است در پیشرفت این آسیب‌شناسی شرکت کنند و پاسخ ایمنی و فرآیندهای خودایمنی را تشدید کنند. برعکس آگافلین ضد هموستاتیک تولید شده توسط غدد پشه‌های آلوده از کموتاکسی نوتروفیل‌ها جلوگیری می‌کند، مانع تجمع پلاکت‌ها می‌شود که توسط کاتپسین/الاستاز تسهیل می‌شود و انعقاد ناشی از نوتروفیل را کاهش می‌دهد.

### توکسوپلاسما گوندی

توکسوپلاسما گوندی که بیش از یک سوم جمعیت جهان را آلوده می‌کند، عامل توکسوپلاسموز است که در نتیجه مصرف غذای آلوده ایجاد می‌شود. عفونت T.gondii جذب نوتروفیل‌ها را به محل آلوده تحریک می‌کند. به طور مناسب، در یک مدل موشی عفونت

www.takbook.com



داخل بینی، انتشار این پاتوژن توسط نوتروفیل‌ها محدود می‌شود، آن را به دام می‌اندازد و آن را در NETها می کشد، بنابراین نشان می‌دهد که نفوذ فعال برای تشکیل NET اجباری نیست. این مشاهدات بعداً در انسان آشکار شد و بیشتر نشان داد که تشکیل NET به MEK-ERK وابسته است.

## نتوزیس و سایتوکاین‌ها

سایتوکاین‌ها پروتئین‌های کوچکی هستند (~۲۰-۵ کیلو دالتون) که توسط سلول‌های سیستم ایمنی ترشح می‌شوند و تأثیرات مختلفی را بر سایر سلول‌ها ایجاد می‌کنند. این‌ها به سه دسته کلی اینترفرون، اینترلوکین و فاکتورهای رشد طبقه‌بندی می‌شوند. این پروتئین‌های سیگنال‌دهنده طیفی از عملیات بیولوژیکی از جمله ایمنی ذاتی و اکتسابی، خون‌سازی، التهاب و ترمیم و تکثیر را از طریق سیگنال‌دهی عمدتاً خارج سلولی تنظیم می‌کنند. سایتوکاین‌ها که توسط چندین نوع سلول با غلظت بالا ترشح می‌شوند، واسطه‌ی تعامل سلول به سلول هستند، اثرات تنظیم‌کننده‌ای روی سلول‌های مجاور دارند و از این پس، عمدتاً به روش پاراکرین عمل می‌کنند. این پلی پپتیدها هم‌چنین به عنوان سیگنال‌های پریشانی سلولی عمل می‌کنند که سلول‌های ایمنی مانند نوتروفیل‌ها را به محل آسیب ایمنی جذب می‌کند. سیتوکین‌ها از طریق رها شدن در گردش خون (اثر غدد درون ریز یا سیستمیک) ممکن است اثرات خود را بر روی سلول‌های دورتر یا ممکن است در خود سلول ترشح کننده اعمال کنند (اثر اتوکراین). سیتوکین‌ها هم‌چنین منجر به به تعویق انداختن آپوپتوزیس نوتروفیل می‌شوند، فرآیندی که برای تنظیم مقاومت میزبان و التهاب مهم است.

در نتوزیس، سایتوکاین‌های مختلف به عنوان واسطه‌های فرآیندهای التهابی عمل می‌کنند و مکانیسم‌های عمل آن‌ها عمدتاً ناشناخته است. IL-6 و TNF-a به عنوان نشان‌گرهای زیستی در گردش نتوزیس عمل می‌کنند. همراه با TNF- a و عامل مهار کننده مهاجرت ماکروفاژها، آن‌ها به عنوان واسطه‌های التهابی برای تغییر هموستاز میکروواسکولار عمل می‌کنند. در جریان خون و با سندرم اختلال عملکرد ارگان‌های متعدد همراه بوده است. القای NETها در ماکروفاژها منجر به فعال شدن التهاب مازوم و ترشح متعاقب آن سیتوکین‌های پیش التهابی IL-1 و IL-18 می‌شود. ترشح IL-13 و IL-18 باعث ایجاد NET می‌شود و یک حلقه

www.takbook.com



بازخورد را تشکیل می‌دهد که در پاتوژنز SLE گزارش شده است. کریستال‌های MSU باعث آزادسازی IL-1 ~ مشتق شده از ماکروفاژها می‌شود که باعث افزایش انتشار NET می‌شود. نوترکیب IL-13 تولید سوپراکسید و انتشار PMNها را با پرایمینگ PMNهای انسانی برای انتشار MPO تقویت می‌کند.

مشابه PMA و LPS، IL-8 نیز باعث ایجاد NET می‌شود. IL-8 آزادسازی الاستاز را به روشی وابسته به غلظت در PMNهای تیمار شده با سیتوکالاسین B القا می‌کند و پیدا شد IL-I این آزادسازی را آغاز می‌کند. با هدف قرار دادن PMNها و تحریک چسبندگی PMN، دگرانولاسیون، انفجار تنفسی و سنتز واسطه چربی، IL-8 به نتوسیس کمک می‌کند. خنثی‌سازی IL-8 با استفاده از آنتی‌بادی برای جلوگیری از آسیب بافتی در بیماری‌های ناشی از NET مانند گلومرولونفریت یافت شده است.

اشکال نوترکیب TNF-a انسانی به طور قابل توجهی پاسخ تنفسی نوتروفیل را به N.formylmethionine-leucyl-phenylalanine (fMLP) افزایش داد و در عین حال آزادسازی تنفسی و لیزوزیم نوتروفیل را تحریک کرد. با افزایش فاگوسیتوز، دگرانولاسیون و انفجار اکسیداتیو در PMNهای گاوی مشاهده می‌شود، TNF-a افزایش مهاجرت به داخل اندوتلیوم به دلیل بالا رفتن مولکول‌های چسبندگی اندوتلیال ایجاد می‌شود. این واسطه‌ها تولید سایتوکاین‌ها را در PMNs تنظیم می‌کنند، مانند افزودن اکسید نیتریک باعث افزایش ترشح TNF- a از نوتروفیل‌های انسانی می‌شود.

اینترفرون‌های نوع ۱ که نقش عمده‌ای در پاتوژنز SLE ایفا می‌کنند، در اثر برهم‌کنش با اتوآنتی‌ژن‌های NET، باعث تمایز سلول‌های پلاسماسیتوئیدی از مونوسیت‌ها می‌شوند. علاوه بر DNA هسته‌ای، رسوب DNA میتوکندری (mtDNA) در NETها در نمونه بیوپسی کلیه نفریت لوپوس یافت شده است. این mtDNA تمایل بیشتری به تحریک تولید IFN از DCهای محیطی از طریق TLR نسبت به dsDNA/antidsDNA دارند.

علاوه بر این سایتوکاین‌ها، اینترلوکین-17A (IL-17A)، یک سایتوکاین پیش التهابی که توسط سلول کمکی Th-17 ترشح می‌شود، جذب سلول‌های ایمنی ذاتی را فعال می‌کند. در پسوریازیس یک بیماری مزمن پوستی ناشی از سیستم ایمنی بیش از حد فعال است، ماست سل‌ها و نوتروفیل‌ها عمدتاً IL-17 را با تراکم بیشتری ترشح می‌کنند و ساختارهای تخصصی

www.takbook.com



به نام تله‌های خارج سلولی را تشکیل می‌دهند. بنابراین سایتوکاین‌ها با تنظیم فرآیندهای مختلف سلولی نقش کلیدی در القا و ادامه نتوزیس دارند.

www.takbook.com

# فصل سوم:

## عوامل تنظیم‌کننده نتوزیس

اتوفاژی، آپوپتوزیس و نکروز سه شکل مختلف مرگ سلولی هستند که یک فرآیند بیولوژیکی حیاتی برای تنظیم رشد و تکامل فیزیولوژیکی است. این فرآیندهای بیولوژیکی ویژگی‌های مورفولوژیکی منحصر به فردی را نشان می‌دهند و مسیرهای سیگنالینگ خاصی را فعال می‌کنند. سرنوشت نهایی سلول نتیجه گفت‌گوی متقابل بین این مسیرهای سیگنالینگ متمایز است که به هم متصل می‌شوند یا حتی هم‌پوشانی دارند. این فرآیندها در ارتباط با نتوزیس مورد مطالعه قرار گرفته‌اند و گزارش‌هایی در مورد دخالت این مسیرهای مرگ سلولی در فرآیند نتوزیس وجود دارد.

### اتوفاژی در نتوزیس

اتوفاژی یک مکانیسم کلیدی برای استقامت سلولی و حفظ هموستاز است. این یک فرآیند خود هضم است که به پاک‌سازی اندامک‌های آسیب‌دیده و پروتئین‌های نادرست تا شده در طول استرس سلولی همراه با بازیافت اندامک‌ها و ماکرومولکول‌های سیتوزولی برای تامین مواد مغذی ضروری با هدف قرار دادن محموله‌های درون سلولی برای تخریب در اندوزوم‌ها و

www.takbook.com



لیزوزوم‌ها کمک می‌کند. این از نظر مورفولوژیکی با تجمع واکوئل های اتوفاژیک مشخص می‌شود. بنابراین نقص جدی در اتوفاژی کشنده در نظر گرفته می‌شود. علاوه بر این، اتوفاژی هم‌چنین به توسعه و بقای لنفوسیت‌ها، ارائه آنتی‌ژن و تکثیر سلول‌های T کمک می‌کند.

مشخص شده است که اتوفاژی در مکانیسم تشکیل تله‌های خارج سلولی نوتروفیل (NETs) ناشی از فوربول میریستات استات (PMA) دخیل است و این فرآیند را ترویج می‌کند. اتوفاژی هم‌چنین نقش مثبتی در فرآیند تشکیل NET های القا شده از فرمیل- متیونیل- لوسیل- فنیل آلانین (fMLP) یا تشکیل NETهای ناشی از اینترلوکین 1β-(IL) ایفا می‌کند. با این حال، NETها را به طور منفی تنظیم می‌کند. تشکیل ناشی از لیپوپلی ساکارید (LPS). حتی اگر اتوفاژی مهار شود، اثری بر فعالیت NOX2 ناشی از PMA وجود ندارد. برای تشکیل NET، تراکم‌زدایی کروماتین درون سلولی ضروری است، که می‌تواند با مهار فرآیند اتوفاژی یا NOX2 به دست آید. بنابراین به نظر می‌رسد بسته به محرک‌های نوتروفیل‌ها، نقش اتوپهاژی در تشکیل NETs متفاوت است.

## محرک‌های اتوفاژیک مختلف نتوزیس را القا می‌کنند

### آنتی بادی‌های سیتوپلاسمی ضد نوتروفیل

واکوئل‌سازی اتوفاژی در نوتروفیل‌های تیمار شده با میلوپراکسیداز (MPO) - و پروتئیناز ۳ ANCA (PR3) مثبت ایمونوگلوبولین (IgG) شناسایی شده است و حدس زده می‌شود که اتوفاژی می‌تواند آزادسازی NETهای القا شده با ANCA-IgG مثبت را تسهیل کند. هم‌چنین گزارش شده است که مهار اتوفاژی تشکیل NET را مهار می‌کند. در سال ۲۰۱۶ شا و همکاران شواهدی برای القای اتوفاژی توسط IgG مثبت MPO و PR3-ANCA ارائه شده است. هنگامی که اتوفاژی مسدود می‌شود، تشکیل NETها مهار می‌شود. تشکیل NETهای نامنظم به پاتوژنز واسکولیت مرتبط با ANCA (AAV) کمک می‌کند. تشکیل NETهای ناشی از ANCA باعث واسکولیت می‌شود و پاسخ خودایمنی علیه ترکیبات نوتروفیل را در بیماران AAV تسهیل می‌کند. ANCAها نشان‌گرهای سرولوژیکی AAV، برای ترکیبات سیتوپلاسمی نوتروفیل‌ها، به ویژه PR3 و MPO اختصاصی هستند. -ANCA

www.takbook.com



IgG، که مخصوص MPO و PR3 است، می‌تواند نوتروفیل‌های انسانی اولیه را برای تشکیل NET در شرایط آزمایشگاهی القا کند.

### فوربول میریستات استات

PMA اتوفاژی سلولی ناشی از راپامایسین را افزایش می‌دهد و هم‌چنین به عنوان یک فعال‌کننده مسیر سیگنال کیناز تنظیم شده با سیگنال خارج سلولی (ERK) عمل می‌کند. اتوفاژی در مکانیسم تشکیل NET تحت درمان با PMA نقش داشت و این فرآیند را ارتقا داد. اتوفاژی و تولید سوپراکسید مستقل از یکدیگر رخ می‌دهند و در نتوزیس ناشی از PMA نقش دارند. تراکم کروماتین داخل سلولی و تشکیل NET به دنبال اتوفاژی گزارش شده است.

### فرمیل- متیونیل- لوسیل- فنیل آلانین مشتق از باکتری

اتوفاژی باعث افزایش تشکیل NETs ناشی از پپتید fMLP مشتق از باکتری می‌شود، مانند تشکیل NETs تحریک شده با PMA یا IL-1B.

در پستانداران راپامایسین (mTOR) کیناز با تنظیم فعالیت اتوفاژیک نقش مهمی در اتوفاژی در نوتروفیل‌ها ایفا می‌کند. پس از تحریک نوتروفیل با fMLP و مهار مسیر mTOR، سرعت انتشار NET افزایش می‌یابد که منجر به تشکیل اتوفاگوزوم می‌شود. از این رو اتوفاژی نوتروفیل ناشی از fMLP توسط مسیر mTOR تنظیم می‌شود. در پاسخ به fMLP راپامایسین، آزادسازی NET را با کنترل هجوم اتوفاژی ممکن می‌سازد. برعکس مسیر mTOR به طور منفی نتوزیس را در پایین دست گیرنده‌های فرمیل پپتیدی (FPR) سیگنالینگ تنظیم می‌کند. فعال‌سازی NADPH اکسیداز (NOX) و مسیر mTOR با اتصال fMLP به FPRها تنظیم می‌شود.

### لیپو پلی‌ساکارید

اتوفاژی به طور منفی نتوزیس را هنگامی که با LPS القا می‌شود تنظیم می‌کند. تشکیل استئوکلاست‌ها با القای اتوفاژی با LPS افزایش می‌یابد. اتوفاژی ناشی از LPS زمانی ایجاد شد که تشکیل اتوفاگوزوم توسط لیزهای سلولی با ایمونوبلات با آنتی بادی علیه زنجیره

www.takbook.com



سبک پروتئین مرتبط با میکروتوبول ۳ (LC3) و هم‌چنین با تشکیل اندامک‌های تاولی اسیدی (AVOs، که شامل اتولیزوزوم‌ها) توسط جریان تشخیص داده شد، ایجاد شد. سایتومتری با استفاده از رنگ فلورسنت حساس به pH، نارنجی آکریدین.

خلاصه‌ای از القاء کننده‌های اتوفاژیک مختلف NET در شکل ۱-۳ ارائه شده است.

## مولکول‌های مرتبط با اتوفاژی در نتوزیس

مسیرهای ترویج نتوزیس در بالادست ROS به طور کامل شناخته نشده است. تعدادی از گیرنده‌های القاکننده ROS (BOX 1) و کینازها، مانند کیناز تنظیم شده با سیگنال خارج سلولی (ERK)، پروتئین کیناز مرتبط با میکروتوبول (MAPK)، MAPK/ERK کیناز (MEK)، مرتبط با گیرنده IL-I کیناز (IRAK)، پروتئین کیناز C (PKC)، فسفوئینوزیتید ۳-کیناز (PI3K) و AKT با نتوزیس مرتبط شده‌اند. PI3K دخیل در نتوزیس نیز در اتوفاژی نقش دارد. فقدان پروتئین مرتبط با اتوفاژی، ATG7 در پرو میلوسیت‌ها باعث کاهش متوسط در آزادسازی NET می‌شود. mTOR که در تنظیم نتوزیس نقش دارد، فرآیند اتوفاژی را سرکوب می‌کند. با این حال، واکوئل‌های $LC3B^{+}$ که شبیه اتوفاگوزوم‌ها هستند، تحت نتوزیس قرار می‌گیرند.

## تراکم‌زدایی کروماتین ناشی از PMA به فعالیت NOX2 در نتوزیس نیاز دارد

مشخص شده است که همراه با متلاشی شدن پوشش هسته‌ای و اکثر غشاهای گرانول، انفجار اکسیداتیو با واسطه NOX2 نیز نقش مهمی در فعال‌سازی نتوزیس دارد. در زمان معین، این‌ها منجر به واکوئل شدن عظیم، تراکم‌زدایی درون سلولی کروماتین هسته‌ای و در نتیجه تشکیل NETها می‌شود. NOX2 یک کمپلکس چند پروتئینی مرتبط با غشاء بسیار تنظیم شده است و مقادیر قابل توجهی سوپراکسید تولید می‌کند که باعث انفجار اکسیداتیو می‌شود، از این رو به عنوان یک کنترل‌کننده نتوسیس شناخته می‌شود. نتوزیس ناشی از PMA را می‌توان با سرکوب فعالیت NOX2 توسط دی فنیلن یودونیوم (DPI) یا با از بین بردن آن مهار کرد.

NOX2 هنگامی که توسط PMA فعال می‌شود باعث تولید سوپراکسید می‌شود. تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) قابل توجه است زیرا این امر برای القای NET الزامی است.

www.takbook.com



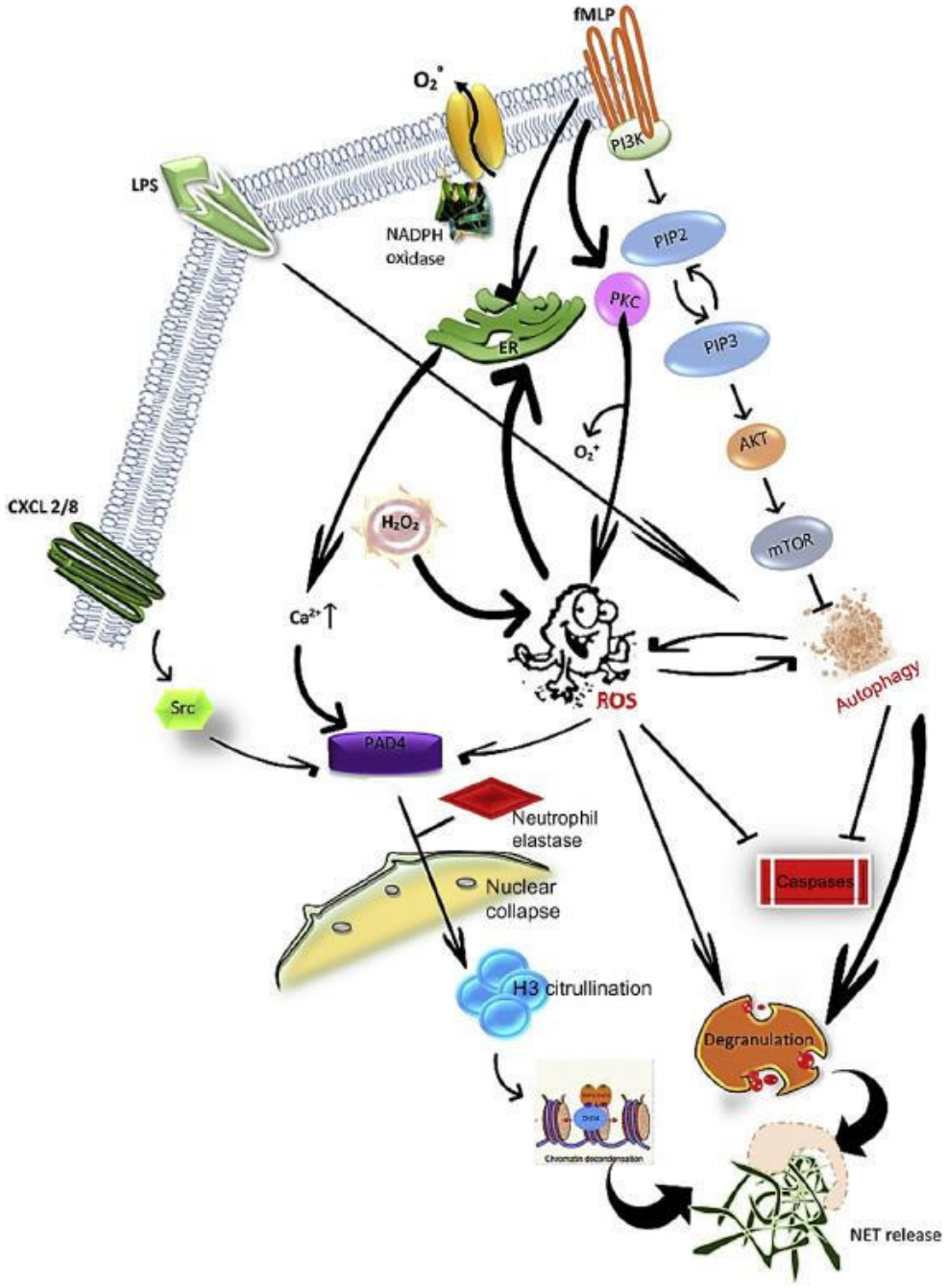
حتی در غیاب NOX2 یا به دلیل نقص ژنتیکی در زیر واحدهای آن یا مهار فعالیت آن توسط DPI، PMA باعث مرگ سلولی می‌شود اما با سینتیک تاخیری در مقایسه با نوتروفیل‌های طبیعی القا نشده. نوتروفیل‌های تحریک نشده از بیماران مبتلا به بیماری گرانولوماتوز مزمن (CGD) یا داوطلبان سالم، خواه از قبل با DPI درمان شده باشند یا نه، به طور خود به خود در اثر آپوپتوزیس می‌میرند، اما کندتر از نتوزیس ناشی از PMA. در زمان شروع نتوزیس یک واکوئلیزاسیون عظیم رخ می‌دهد. تصور می‌شد که واکوئل‌ها از پوشش هسته‌ای بیرون می‌آیند و باعث فروپاشی آن قبل از تشکیل NET می‌شوند، همان‌طور که قبل از متلاشی شدن پوشش هسته‌ای تولید می‌شوند. مانند نوتروفیل‌های معمولی، با تحریک نوتروفیل‌های CGD با PMA، آنها تحت واکوئل‌سازی عظیم قرار می‌گیرند و پتانسیل میتوکندریایی خود را به سرعت از دست می‌دهند. در نوتروفیل‌های CGD، در طول فاصله زمانی بین تحریک PMA و تجزیه غشای پلاسمایی، تراکم کروماتین داخل سلولی مشاهده نشد. این واکوئل‌سازی عظیم در طول نتوزیس حامی این است که غشاهای شبکه آندوپلاسمی (ER) ممکن است به عنوان منبع غشاء همراه با تشکیل اتوفاگوزوم جمع شوند. اگر چنین است، پس کاهش غشاهای ER دور هسته‌ای می‌تواند فروپاشی هسته‌ای را کاهش دهد. هنگامی که نوتروفیل‌های CGD با PMA القا می‌شوند، واکوئل‌سازی عظیم بدون تجزیه غشای هسته‌ای اتفاق می‌افتد، که رابطه بین فروپاشی پوشش هسته‌ای و تراکم‌زدایی کروماتین بعدی و هم‌چنین فرآیند واکوئل‌سازی را به چالش می‌کشد. این نشان می‌دهد که مکانیسم‌های دیگری به غیر از فروپاشی پوشش هسته‌ای در تشکیل وزیکول‌ها و واکوئل‌هایی با غشای دوگانه دخیل هستند.

از طریق فرآیندی که به عنوان پرایمینگ نامیده می‌شود، فعالیت NOX2 توسط LPS و IL-8 حساس می‌شود، با این حال، آن‌ها نمی‌توانند فعالیت Nox2 را مستقیماً القاء کنند، همان‌طور که با ناتوانی نوتروفیل‌های CGD در انجام نتوزیس مشهود است. آشکار است که فعالیت Nox2 برای نتوزیس ضروری است. بیانچی و همکارانش در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که ناتوانی نوتروفیل‌های بیماران CGD برای انجام نتوزیس با حساسیت آن‌ها به عفونت مرتبط است. نتوزیس با تراکم‌زدایی کروماتین داخل سلولی و متلاشی شدن پوشش هسته مشخص می‌شود. نشان داده شده است که فعالیت Nox2 برای تراکم‌زدایی کروماتین مورد

www.takbook.com



نیاز است، در نوتروفیل‌های دست نخورده، فعالیت NOX2 برای تراکم‌زدایی کروماتین مورد نیاز است.




**شکل ۳-۱. القاکننده‌های اتوفاژیک NET. لیپوپلی ساکارید (LPS) باعث ایجاد اتوفاژی در نوتروفیل‌ها می‌شود و آن‌ها را برای انفجار اکسیداتیو ناشی از NADPH اکسیداز حساس می‌کند. فرمیل متیونیل- لوسیل- فنیل آلانین (fMLP) باعث ایجاد اتوفاژی توسط هدف پستانداران مسیر راپامایسین (mTOR) می‌شود و تولید ROS را افزایش می‌دهد که**

www.takbook.com



**منجر به سیترولیناسیون هیستون ۳ توسط PAD4 و نوتروفیل الاستاز می‌شود. هم‌چنین سیگنال‌دهی را از طریق Akt/PI3K القا می‌کند. توالی PI3K/Akt mTOR از اتوفاژی جلوگیری می‌کند و از تشکیل NET جلوگیری می‌کند. ROS همراه با اتوفاژی باعث تراکم‌زدایی کروماتین و فروپاشی غشای هسته‌ای می‌شود که منجر به NETosis می‌شود، اما فعالیت کاسپاز را مهار می‌کند.**

## تأثیر مهار اتوفاژی بر نتوزیس

ورتامانین یک متابولیت استروئیدی قارچی و نفوذپذیر سلولی است که به عنوان یک مهارکننده قوی و غیرقابل برگشت PI3Ks عمل می‌کند. اتوفاژی توسط mTOR کیناز و به طور غیر مستقیم توسط مسیر بقای PI3K/AKT تعدیل می‌شود. در اتوفاژی مواد سلولی جدا شده و برای تجزیه به لیزوزوم تحویل داده می‌شوند. مهار PI3K با ورتمانین می‌تواند جداسازی اتوفاژیک را مهار کند. از طرف دیگر، اتوفاژی مهار شده توسط ورتمانین بر تولید سوپراکسید تأثیر نمی‌گذارد، اما از القای واکوئولیزاسیون جلوگیری می‌کند. از این رو، این مهار بدون ایجاد اختلال در فعالیت NOX2 از تراکم‌زدایی کروماتین درون سلولی جلوگیری می‌کند که این نتیجه را نشان می‌دهد که در طول تشکیل NET، فعالیت NOX2 ضروری است اما برای تراکم‌زدایی کروماتین درون سلولی کافی نیست. نوتروفیل‌های CGD که تحت اتوفاژی قرار می‌گیرند در فعالیت NOX2 کمبود دارند و بنابراین نمی‌توانند تراکم کروماتین داخل سلولی را القا کنند. هنگامی که اتوفاژی نوتروفیل مهار شد، تراکم کروماتین داخل سلولی مختل می‌شود، با این حال، نوتروفیل‌ها به مرگ سلولی ادامه دادند و ویژگی‌های مشخصه آپوپتوزیس را نشان دادند. بنابراین به جای فرآیند مرگ سلولی، اتوفاژی در مرحله اولیه نتوزیس ضروری است.

## نقش گیرنده‌های Toll مانند در اتوفاژی

TLRها و گیرنده‌های شبیه به نوکلئوتید اتصال و دامنه الیگومریزاسیون (NOD) (NLR) گیرنده‌های تشخیص الگو (PRR) هستند که القای اتوفاژی را در ماکروفاژها نشان می‌دهند. در پاسخ به لیگاندهای TLR، نوتروفیل‌ها نیز می‌توانند اتوفاژی را القا کنند. اتوفاژی نوتروفیل می‌تواند به هر دو روش القا شود، یعنی به روشی وابسته به فاگوسیتوز یا مستقل از فاگوسیتوز.

www.takbook.com



در از بین بردن میکروب‌های داخل سلولی، لیگاندهای TLR7 که اتوپاژی را تحریک می‌کنند، نقش مهمی ایفا می‌کند، حتی زمانی که پاتوژن هدف به طور معمول با سیگنال‌دهی TLR7 همراه نبود. این به عنوان مدرکی برای اتصال سیگنال‌های TLR و اتوفاژی عمل می‌کند: دو سیستم دفاعی ذاتی ایمنی، که مکانیزم مولکولی احتمالی را برای القای اتوفاژی در پاسخ به تهاجم پاتوژن فراهم می‌کند.

## دخالت اتوفاژی در تشکیل تله خارج سلولی نوتروفیل در طول عفونت قارچی

اتوفاژی نقش مهمی در القای انتشار NET در پاسخ به کاندیدا آلبیکنس دارد. هیف‌های C. albicans و مخمر زنده هر دو باعث آزادسازی NET با واسطه اتوفاژی می‌شوند، اگرچه سینتیک‌ها و مکانیسم‌های متمایز القای NET به کار گرفته شده است. تشکیل NET در پاسخ به فرم هیف شامل اتوفاژی می‌شود اما نه ROS در حالی که تشکیل NET که توسط مخمر C.albicans ایجاد می‌شود هر دو مکانیسم را شامل می‌شود.

## آپوپتوزیس در نتوزیس

آپوپتوزیس یک مکانیسم مرگ سلولی است که با واسطه کاسپازها انجام می‌شود و شامل تراکم هسته و سیتوپلاسم می‌شود. نقش مهمی در فرآیندهای رشد ایفا می‌کند زیرا در حذف سلول‌های بین انگشتی، سلول‌های عصبی غیرعملکردی و لنفوسیت‌های فعال نقش دارد. با این حال، ممکن است در پاک‌سازی سلول‌های پیر (گلبول‌های قرمز خون و انتروسیت های روده) نقش نداشته باشد. مجموعه خاصی از کاسپازها که در آبشارها عمل می‌کنند آپوپتوزیس را واسطه می‌کنند. سلول‌های آپوپتوزیس خود توسط ماکروفاژها غرق می‌شوند، بنابراین یافتن سلول‌های آپوپتوزیس آزاد در داخل بدن، حتی در بافت‌هایی که تعداد زیادی از سلول‌ها تحت آپوپتوزیس قرار می‌گیرند، دشوار است. بنابراین آپوپتوزیس نه تنها شامل مکانیسم‌هایی برای کشتن سلول‌ها، بلکه برای به‌کارگیری ماکروفاژها (مرا پیدا کن) و ارائه سیگنال (ها) (مرا بخور) به ماکروفاژها برای غرق شدن سلولی را شامل می‌شود. اگرچه نتوزیس یک شکل متمایز از مرگ سلولی است که کاملاً مستقل از آپوپتوزیس است، یک شکل جایگزین مرگ نوتروفیل «آپونتوزیس» اخیراً گزارش شده است که با آپوپتوزیس و نتوزیس همراه است. آپونتوزیس، آپوپتوزیس، نتوزیس، شباهت‌ها و هم‌چنین تفاوت‌های

www.takbook.com



منحصر به فردی دارند. شناسایی مراحل مولکولی دخیل در تنظیم آپونتوزیس می‌تواند کلیدی برای درک موقعیت‌های پاتوبیولوژیکی خاص باشد.

در آپوپتوزیس ذاتی، هنگامی که سیتوکروم c به پروتئین آداپتور، Apaf-1 متصل می‌شود، در سیتوپلاسم، کمپلکس با فعال کردن pro-caspase-9، کاسپاز ۹ را تشکیل می‌دهد. در نتیجه، کاسپاز ۹ کاسپاز-۳/۷ را که پروتئین‌های مؤثر هستند، فعال می‌کند و منجر به فعال‌سازی DNase فعال‌شده با کاسپاز (CAD) می‌شود. لیگاند Fas و فاکتور نکروز دهنده تومور a (TNF-a) با فعال کردن Fas و گیرنده فاکتور نکروز تومور-۱ (TNFR-1)، که پروتئین‌های غشایی هستند، آپوپتوزیس بیرونی را القا می‌کنند. کمپلکس سیگنال‌دهی مرگ (DISC) متشکل از Fas، پروتئین مرتبط با Fas با دامنه مرگ (FADD) و procaspase-8، شکل‌گیری نتیجه فعال شدن هر یک از پروتئین‌های غشایی است که در نهایت باعث فعال شدن کاسپاز ۸ پیشرو برای فعال شدن کاسپازهای موثر ۷/۳ و در نتیجه CADS می‌شود. بسته به حالت فسفوریلاسیون، کاسپاز ۸ استقامت نوتروفیل‌ها را افزایش می‌دهد. اعضای خانواده Bcl-2، Bax و Bak، نقش مهمی در آپوپتوزیس نوتروفیل ایفا می‌کنند. نوتروفیل‌ها بیان بالایی از اعضای خانواده پروآپوپتوسیس Bcl-2، Bax و Bak دارند، که ممکن است نقشی در طول عمر کوتاه مشاهده شده آن‌ها داشته باشد. Proapoptotic Bid، Bim و Bad نیز در نوتروفیل‌ها بیان می‌شوند. نوتروفیل‌ها بیانگر Mcl-1، Bcl-xl و Al هستند که اعضای خانواده Bcl-2 ضد آپوپتوزیس هستند.

عوامل و مسیرهای سیگنال‌دهی زیادی وجود دارد که بر آپوپتوزیس نوتروفیل تأثیر می‌گذارد. از یک طرف، بقای نوتروفیل‌ها توسط فاکتور تحریک کننده کلنی گرانولوسیت/ماکروفاژ (GM-CSF)، فاکتور تحریک کننده کلنی گرانولوسیت (G-CSF) و آدنوزین تری فسفات (ATP) افزایش می‌یابد، از سوی دیگر، آپوپتوزیس آن‌ها است. با فعال شدن برخی از اعضای خانواده گیرنده فاکتور رشد عصب TNF افزایش یافته است. اگرچه نتوزیس و آپوپتوزیس معمولاً دو فرآیند جداگانه هستند، اما از نظر تعامل بین آپوپتوزیس و نتوزیس، فعالیت کاسپاز (یک نشانه آپوپتوزیس) در طول القای نتوزیس وجود ندارد.

www.takbook.com



## آپونتوزیس

مانند آپوپتوز و همه انواع نتوزیس، آپونتوزیس به افزایش تولید ROS، به ویژه با منشاء میتوکندریایی نیاز دارد. اشعه ماوراء بنفش (UV) در دوزهای بالا می‌تواند آپوپتوزیس و نتوزیس را در همان نوتروفیل القا کند. در طول آپونتوزیس ناشی از اشعه ماوراء بنفش، NOX غیرفعال است و به این معنی است که فرآیند مستقل از NOX است، با این حال، فعال‌سازی p38 MAPK مورد نیاز است. آپونتوزیس مشابه سایر اشکال نتوزیس مستقل از NOX، نیاز به فعال‌سازی رونویسی دارد. با این حال، هیستون‌ها در طی این فرآیند سیترولینه نمی‌شوند، و آن را متفاوت از سایر اشکال نتوزیس مستقل از NOX نشان می‌دهند. این نشان می‌دهد که در طول قرار گرفتن نوتروفیل‌ها در معرض اشعه ماوراء بنفش، هیچ تغییری در غلظت کلسیم داخل سلولی و فعال شدن پپتیدیل آرژنین دیمیناز ۴ (PAD4) وجود ندارد. علاوه بر این، کلیواژ یا برش کاسپاز-۳ وجود دارد که نشان‌دهنده فعال شدن مسیرهای آپوپتوز است، مانند سایر انواع آپوپتوز. با این حال، مشابه سایر اشکال نتوزیس مستقل از NOX، در طول آپونتوزیس، رونویسی افزایش می‌یابد (شکل ۳-۲).

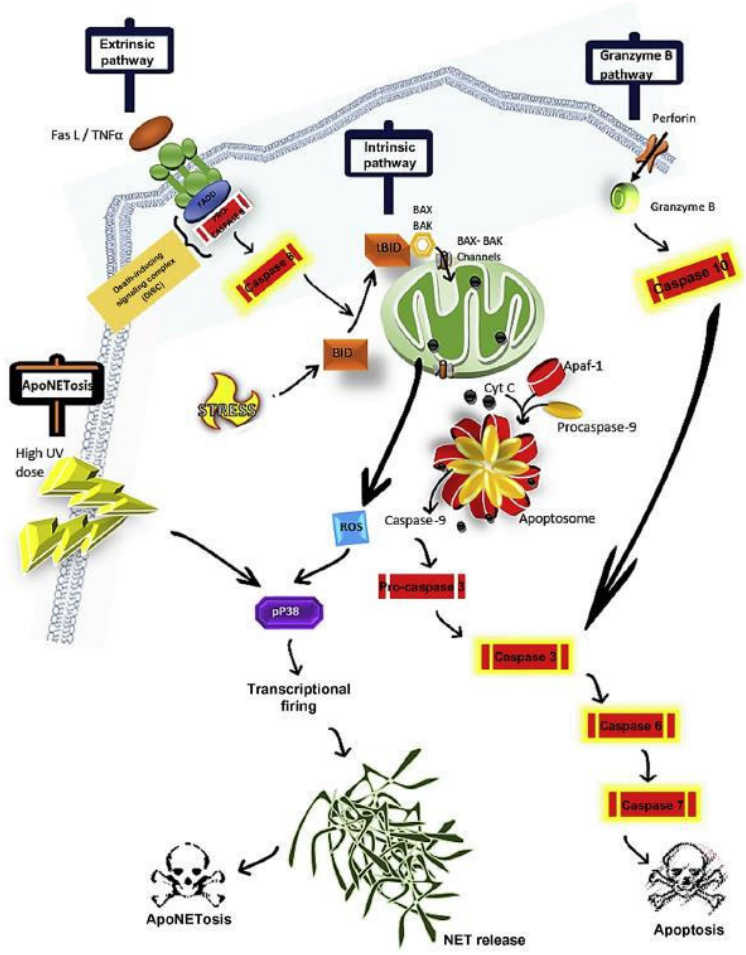
## مولکول‌ها در سطح مشترک آپوپتوز و نتوزیس

کلرید سدیم هیپرتونیک (NaCl) آپوپتوز را تقویت می‌کند و همزمان نتوزیس وابسته به NOX2 را سرکوب می‌کند. ولی بر عکس نتوزیس مستقل از NOX2 توسط محلول‌های هیپرتونیک سرکوب نمی‌شود. نتوزیس ناشی از یونومایسین توسط سالین هایپرتونیک سرکوب می‌شود، اما نتوزیس ناشی از A23187 را افزایش می‌دهد، با این حال، هیچ تغییری در نتوزیس ناشی از استافیلوکوک اورئوس رخ نمی‌دهد. این هم‌چنین نتوزیس وابسته به NOX2 ناشی از چندین آگونیست را سرکوب می‌کند. از سوی دیگر، چندین پیامد در مورد مرگ نوتروفیل‌های ناشی از آگونیست‌های نتوزیس مستقل از NOX2 دارد. افزایش غلظت مانیتول و D-سوربیتول، اسمولیت‌های غیر یونی تولید ROS و نتوزیس ناشی از یونومایسین، PMA و LPS را سرکوب می‌کند. سالین هیپرتونیک، نتوزیس را سرکوب می‌کند و آپوپتوز را به عنوان یک مسیر جایگزین مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی توسط کاسپاز ۳ بریده شده (cCasp-3) که یک نشان‌گر آپوپتوتیک است آشکار می‌کند. اولفاکتومدین ۴ (OLFM4) تقریباً در ۲۰٪ و ۲۵٪ از نوتروفیل‌ها وجود دارد که یک پروتئین گرانولی خاص است. وجود

www.takbook.com



آن در سطح رونویسی تنظیم نشده است. در شرایط in vivo، زیرجمعیت‌های نوتروفیل OLFM4 مثبت و OLFM4 منفی به طور مساوی به محل‌های التهابی وارد می‌شوند و به طور مشابه تحت آپوپتوز و هم‌چنین باکتری فاگوسیتوز کننده قرار می‌گیرند. پس از انتقال در داخل بدن، تنها OLFM4 رها شد، در حالی که در شرایط آزمایشگاهی دگرانولاسیون نیاز به محرک‌های ترشح قوی، یعنی سیتوکالاسین B و یونومایسین نیاز هست. با این حال، در پاسخ به PMA، OLFM4 پس از تشکیل NETها منتشر شد و تنها در کسری از NETها یافت شد.




**شکل ۳-۲. مسیرهای آپونتوزیس در مقابل آپوپتوز (خارجی، درونی و گرانزیم B). FasL یا TNFα به گیرنده مرگ غشایی، پروتئین مرتبط Fas با دمین مرگ (FADD) متصل می‌شود که مولکول‌های پروکاسپاز ۸ را به‌کار می‌گیرد و یک کمپلکس سیگنال‌دهنده مرگ (DISC) را با کاسپاز ۸ تشکیل می‌دهد. در نهایت این کاسپازهای ۳ و ۷ را با پردازش پروتئولیتیک فعال می‌کند که باعث فعال شدن بیشتر آبشار کاسپاز منجر به مرگ می‌شود. در برخی شرایط، تداخل بین مسیرهای بیرونی و درونی رخ می‌دهد. محرک خاصی مانند استرس سلولی می‌تواند پروتئین BID را فعال کند. کاسپاز-**

www.takbook.com



**۸، BID را پروتئولیز می‌کند و BID کوتاه شده (tBID) را تشکیل می‌دهد. فعال‌سازی BID باعث مونتاژ شدن الیگومر BAK-BAX بر روی غشای خارجی میتوکندری می‌شود. BAX-BAK امکان خروج سیتوکروم c را به سیتوزول می‌دهد. سیتوکروم C با Apaf-1 و پرو-کاسپاز-۹ ترکیب می‌شود و کاسپاز-۹ فعال را تشکیل می‌دهد که هم‌چنین در رویدادهای فعال‌سازی بیشتر کاسپاز که منجر به مرگ سلولی می‌شود شرکت می‌کند. گرانزیم هم‌چنین باعث آپوپتوز سلول‌های هدف می‌شود. این یک خانواده از پروتئازهای مشابه ساختاری سرین است که در گرانول‌های سیتوتوکسیک لنفوسیت سیتوتوکسیک ذخیره شده است که توسط پرفورین تحویل داده می‌شود. پرفورین منافذی را تشکیل می‌دهد و سلول را هدف قرار می‌دهد تا اجازه ورود گرآنزیم‌ها را بدهد که از نظر فعالیت مشابه کاسپاز است. گرانزیم سوبسترای خود را می شکافد و واسطه کاسپاز-۳ و کاسپاز آغازگر-۸ برای تنظیم مسیر آپوپتوز می‌شود. آپونتوز ناشی از اشعه ماوراء بنفش نتیجه فعال‌سازی MAPK p38 و افزایش تولید ROS است که منشأ میتوکندری دارد و منجر به راه اندازی رونویسی می‌شود.**

## جذب فاگوسیتوزی: آپوپتوز در مقابل نتوزیس

حذف فاگوسیتوتیک NETها و نوتروفیل‌های تحت نتوزیس و پاسخ بعدی آن در مقایسه با پاسخ پس از حذف نوتروفیل‌های آپوپتوتیک یا نکروتیک توسط فاگوسیت‌ها به خوبی درک نشده است. سلول‌های آپوپتوتیک اثر سرکوب‌کننده‌ای بر تولید سیتوکین‌های IL-1β، IL-6 و TNF-α با LPS تحمیل می‌کنند، در حالی که جذب NETها تولید این سیتوکین‌ها توسط LPS را افزایش می‌دهد. TGF-β، یک سایتوکین ضد التهابی، زمانی تولید می‌شود که سلول‌های آپوپتوتیک توسط ماکروفاژها بلعیده می‌شوند، ولی همیشه این طور نیست. در اثر واکنش متقابل ماکروفاژها با سلول‌های آپوپتوتیک، اکسید نیتریک (NO) تولید می‌شود که منجر به کاهش مدولاسیون کموکاین خاص نوتروفیل (MIP-2) در شرایط آزمایشگاهی و هم‌چنین در داخل بدن می‌شود. سطوح بالای سایتوکین‌های التهابی در بیماران خودایمنی، نوتروفیل‌ها را به سمت نتوزیس تحریک می‌کند، در حالی که اتوآنتی‌بادی‌ها نوتروفیل‌ها را وادار می‌کنند که از آپوپتوز به نتوزیس تبدیل شوند.

NETها توسط نوتروفیل‌های چسبنده که با سلول‌های آپوپتوتیک، رقابت می‌کنند، تولید می‌شوند. رشته‌های کروماتین که از حالت تراکم خارج شده‌اند با مولکول‌های فعال زیستی که در جذب میکروب‌های مختلف و در التهاب استریل مداوم نقش دارند نشاندار می‌شوند. برعکس، نوتروفیل‌هایی که سلول‌های آپوپتوتیک را زودتر فاگوسیتوز کرده‌اند، نمی‌توانند اینتگرین β2 را تنظیم کنند و به محرک‌هایی که NET را القا می‌کنند، مانند IL-8، واکنش نشان نمی‌دهند. اختلال در تشکیل NET به التهاب پیوسته و آسیب بافتی در بیماری‌هایی

www.takbook.com



مانند لوپوس اریتماتوز سیستمیک (SLE) و AAV کمک می‌کند که در آن پاک‌سازی سلول‌های آپوپتوتیک حساس است.

## نکروز در نتوزیس

بر خلاف آپوپتوز، نکروز اغلب به عنوان یک مرگ سلولی غیرقابل تنظیم و تصادفی در نظر گرفته می‌شود. با این حال، شناسایی نکروز برنامه‌ریزی‌شده، وجود مکانیسم‌های مرگ سلولی تنظیم‌شده غیرآپوپتوتیک متعدد را پشتیبانی می‌کند. چندین نوع نکروز برنامه ریزی شده گزارش شده است؛ از جمله نکروپتوز، پارتاناتوس، فروپتوز، پیروپتوز و نتوزیس. نکروپتوز نوعی مرگ سلولی نکروزه تنظیم شده است که در تعدادی از مسیرهای سیگنالینگ مهم با آپوپتوز همگرا می‌شود. به طور کلی، درک عمده در مورد نکروپتوز از مطالعات روی سیگنالینگ TNF حاصل می‌شود. TNF یک سیتوکین پلیوتروپیک است که نقش کلیدی در روند التهاب ایفا می‌کند. تحت شرایط خاصی، TNF از طریق اتصال به TNFR به عنوان یک القا کننده مرگ سلولی موثر عمل می‌کند. حتی اگر گزارشی وجود داشت که RIPK1 ناشی از TNF باعث مرگ سلولی مستقل از کاسپاز می‌شود، مرگ سلولی غیر آپوپتوتیک ناشی از TNF به اندازه کافی جالب توجه نبود، تا زمانی که محققان کشف کردند که وقتی که آپوپتوز بلاک می‌شود سلول‌ها دچار مرگ نکروز مانند می‌شوند.

پس از خروج از گردش خون محیطی، اکثر نوتروفیل‌ها حتی در غیاب عفونت دچار آپوپتوز می‌شوند. هنگامی که آپوپتوز به شیوه‌ای سازمان یافته پیشرفت می‌کند، اجسام آپوپتوزی که شامل آنزیم‌های گرانولار بالقوه مضر هستند توسط ماکروفاژهای بافتی و سایر فاگوسیت‌ها بلعیده می‌شوند. از سوی دیگر، نکروز یک مرگ سلولی بی نظم است. اجزای سمی‌مانند آنزیم‌های پروتئولیتیک و آنزیم‌های تولید کننده اکسیدان از سلول‌های نکروزه به‌صورتی تنظیم‌نشده آزاد می‌شوند که توسط رویدادهای غیرقابل پیش‌بینی تحریک شوند. در طول عفونت، شاید نکروتیک نوتروفیل، یکی از دلایل آسیب بافتی باشد، اما اطلاعات بسیار کمی در مورد مکانیسمی که از طریق آن دچار نکروز می‌شوند در دسترس است.

www.takbook.com



## پاسخ به نکروز

الگوهای مولکولی مرتبط با آسیب DAMPs، توسط سلول‌های نکروتیک منتشر می‌شوند که شامل پروتئین HMGB1، پروتئین‌های شوک حرارتی، اسید اوریک، کمپلکس‌های کروماتین DNA و پپتیدهای ضد میکروبی که توسط گیرنده‌های خاص، PRRها شناسایی شده و سنتز واسطه‌های پیش التهابی را تحریک می‌کنند. HMGB1 آزاد شده از سلول‌های نکروز، ترشح سیتوکین‌های التهابی توسط مونوسیت‌ها را تحریک می‌کند و رونویسی ژن را تنظیم می‌کند. کمپلکس‌های کروماتین DNA و پروتئین‌های شوک حرارتی (HSPs) نیز برای تحریک تولید سیتوکین‌های پیش التهابی شناخته شده‌اند.

همان‌طور که PRRها الگوهای مولکولی میکروارگانیسم‌ها و محصولات مرتبط با آن‌ها را از طریق الگوهای مولکولی وابسته به پاتوژن (PAMPs) مانند LPS، پپتیدوگلیکان و فلاژلین که منشأ باکتریایی دارند و هم‌چنین RNA و DNA که می‌توانند از منشا ویروسی یا باکتریایی باشد. در بین PRRها، گیرنده شبه Toll (TLR)، به خوبی مورد مطالعه قرار گرفته است و بیش از ۱۰ زیرگروه TLR در انسان شناسایی شده است. در میان آن‌ها، TLR-3، RNA دو رشته‌ای ویروسی را دریافت می‌کند و به ماکروفاژها اجازه می‌دهد تا بقایای نوتروفیل‌های نکروزه را شناسایی کنند که منجر به تحریک ترشح سیتوکین‌های پیش‌التهابی می‌شود.

## مورفولوژی نوتروفیل‌های نکروتیک

مشخص شده است که نوتروفیل‌های نکروتیک دارای یک سیتوپلاسم متورم با یک هسته متغیر هستند. توالی تغییرات مورفولوژیکی اولیه در هسته آن‌ها شامل ادغام هسته‌های لوبوله شده و تبدیل شدن به یک ساختار گرد بزرگ و به دنبال آن تورم سلولی و متلاشی شدن غشاء است. از آنجایی که در ابتدا بسیاری از نوتروفیل‌ها دچار آپوپتوز می‌شوند، این تغییرات مورفولوژیکی ابتدایی نیستند، بلکه در صورت شدت، آسیب زا هستند. در ابتدا، نوتروفیل‌هایی که به سمت مسیر آپوپتوز هدایت می‌شوند، در یک زمان به سمت نکروز تمایل پیدا می‌کنند و این تلاش به عنوان «نکروز ثانویه» شناخته می‌شود. در پایان نکروز، تراکم کروماتین و نشت محتویات هسته‌ای به سیتوپلاسم رخ می‌دهد و غشای هسته را دست نخورده می‌گذارد. نکروز سلولی در نهایت باعث نفوذپذیری غشای سیتوپلاسمی و

www.takbook.com



نشت محتویات سلولی توسط اتولیز می‌شود. آسیب نکروتیک معمولاً با انفیلتراسیون مقادیر زیاد نوتروفیل همراه است.

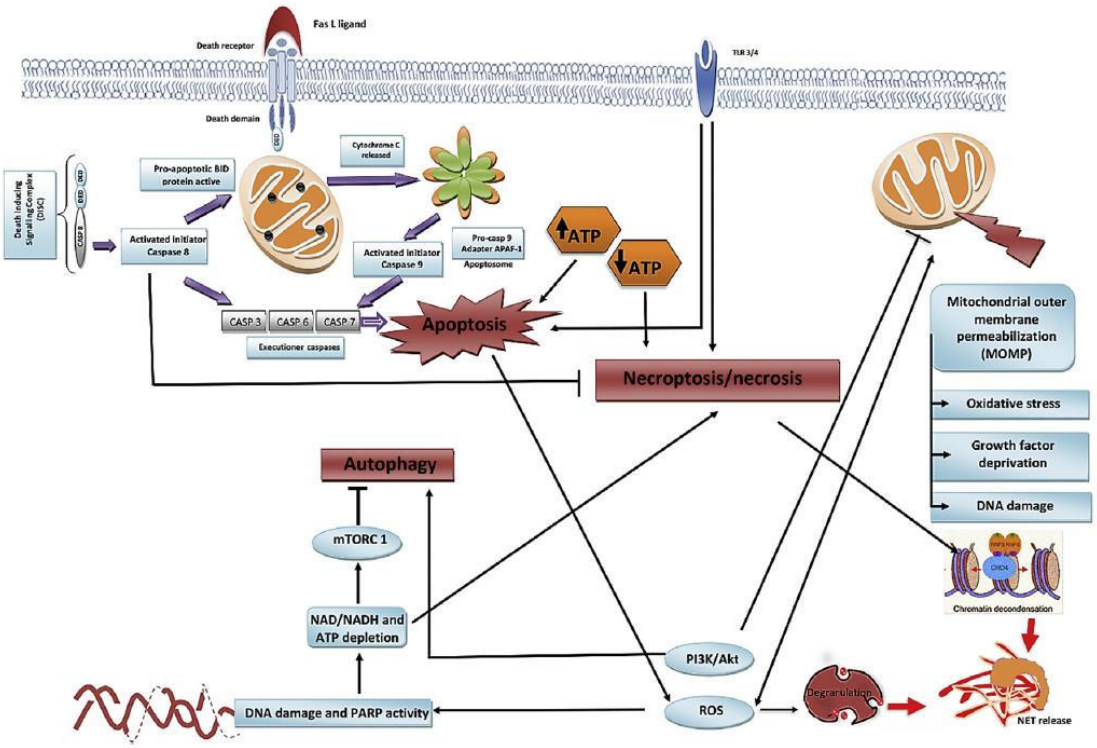
افزایش شدت آسیب اندام ممکن است منجر به شرایط حاد تهدید کننده زندگی شود. انفیلتراسیون نوتروفیل فرآیند اولیه حیاتی پاسخ التهابی به نکروز استریل است. همزمانی سلول‌های نکروتیک و نتوزیس باعث به دام افتادن سلول‌های مرده می‌شود. به دلیل از بین رفتن یکپارچگی غشاء در هر دو بیماری نتوزیس و نکروز، پروتئین‌های داخل سلولی به بیرون از سلول‌ها نشت می‌کنند. حتی پس از نتوزیس، برخی از پروتئین‌های داخل سلولی مانند MPO، S100A8 و S100A9 با DNA مرتبط باقی می‌مانند، اما برخی دیگر مانند HMGB1 و HSPs این‌گونه نخواهند بود از این رو، می‌توان حدس زد که DAMPهایی مانند HMGB1 و HSPs هم در نتوزیس و هم در نکروز آزاد می‌شوند تا پاسخ‌های التهابی را تحریک کنند. شکل ۳-۳ خلاصه‌ای از نحوه همگرایی مسیرهای آپوپتوز، اتوفاژی و نکروز با نتوزیس را ارائه می‌دهد.

## محرک‌های مختلف برای القای تله خارج سلولی نوتروفیل (NET)

کشف سیترولیناسیون هیستون‌ها توسط PAD4 یک رویداد مهم است و نقطه عطفی در فرآیند درک مکانیسم تشکیل NET است. اگرچه این مولکول‌ها واسطه ضروری برای تشکیل NET هستند، نتایج جدیدتر نشان می‌دهد که مشارکت آن‌ها در این فرآیند احتمالاً ویژه محرک و وابسته به موقعیت است. این مشاهدات هم‌چنین با توجه به این که فرآیند پیچیده تشکیل NET توسط یک مسیر سیگنالینگ منفرد انجام نمی‌شود، بلکه از طریق شبکه پیچیده‌ای از رویدادهای مولکولی و سلولی انجام می‌شود، همسو هستند. مجموعه‌ای از محرک‌ها شامل همه میکروب‌ها (باکتری‌ها، ویروس‌ها، قارچ‌ها و انگل‌ها)، مولکول‌های محلول (میکروبی و میزبان)، و میکروکریستال‌هایی با منشأ متفاوت شناسایی شده‌اند که انتشار NET را PMNها تحریک می‌کنند. به دام انداختن میکروارگانیسم‌ها اگرچه یکی از عملکردهای اصلی NETها است، اما ممکن است تنها این نباشد. با در نظر گرفتن طیف گسترده‌ای از عوامل تحریک کننده NETها در شرایط التهابی استریل، به احتمال زیاد NETها بدون توجه به محرک، به طور قابل توجهی در آبشار التهاب عمومی مشارکت دارند. القاگرهای مختلف NET در ادامه توضیح داده شده است.

www.takbook.com






**شکل ۳-۳. تعامل مسیرهای آپوپتوز، اتوفاژی و نکروز در طول NETosis. اتصال لیگاند FasL به گیرنده مرگ غشایی باعث جذب FADD می‌شود. رسپتور متصل به FADD ، کمپلکس القا کننده مرگ (DISC) را با کاسپاز-۸ تشکیل می‌دهد که کاسپاز اعدام کننده (CASP3، CASP6 و CASP7) را بیشتر فعال می‌کند و BID را پروتئولیز می‌کند. BID باعث مونتاژ BAK-BAX میشود که منجر به خروج سیتوکروم c می‌شود که با آپوپتوزوم Apaf-1 و pro-caspase-9، آپوپتوزوم را ایجاد می‌کنند و باعث بیشتر فعال شدن آبشار کاسپاز اعدامی و در نهایت آپوپتوز می‌شود. سطح بالای ATP درون سلولی اغلب به نفع آپوپتوز است در حالی که سطح پایین ATP به نفع نکروز است. هنگامی که Akt فعال می‌شود، mTOR القا می‌شود تا اتوفاژی را مهار کند. mTOR می‌تواند سطح ATP داخل سلولی را حس کند و در مواقعی که سطح ATP پایین است، مهار اتوفاژی را کاهش می‌دهد. ATP فعال شده می‌تواند برخی از عوامل آپوپتوز مانند کاسپاز ۹ را فسفریله کند که منجر به مهار آپوپتوز می‌شود. افزایش تولید ROS منجر به آسیب DNA می‌شود و فعالیت پلی (ADP ریبوز) پلیمراز (PARP) باعث کاهش ATP و NAD/NADH می‌شود که باعث نکروز/نکروپتوز و مهار اتوفاژی می‌شود. تولید ROS هم‌چنین باعث نفوذپذیری غشای میتوکندری (MOMP) می‌شود. دگرانولاسیون با واسطه ROS که در خروج کروماتین از حالت تراکم در نکروز نقش دارد منجر به آزادسازی NET در نوتروفیل‌ها می‌شود.**

## میکروکریستال‌ها

میکروکریستال‌ها با اندازه ۱۱۰۰ میکرومتر بلورهای نامحلول هستند که از نظر ترکیب و ساختار متفاوت هستند. میکروکریستال‌ها با تحریک فاگوسیت‌ها از جمله نوتروفیل‌های پلی‌مورفونوکلئر (PMN) پاسخ التهابی را آغاز می‌کنند. میکروکریستال‌های مهمی که در

www.takbook.com



تشکیل NET دخیل هستند شامل کریستال‌های مونوسدیم اورات (MSU) ایجاد کننده نقرس، کریستال‌های کلسیم پیروفسفات دهیدراته ایجاد کننده نقرس، کریستال‌های کلسترول مرتبط با تصلب شرایین، سیلیکوزیس باعث ایجاد کریستال‌های سیلیکا و کریستال‌های ادجوانت آلوم می‌شوند.

## کریستال‌های اورات مونوسدیم

کریستال‌های MSU میکروکریستال‌های التهابی هستند که باعث بیماری خود التهابی، نقرس می‌شوند، این کریستال‌ها دارای ضریب دو شکستی، سوزنی شکل و معمولاً ۲۵-۵ میکرومتر (گاهی اوقات ۱۰۰ میکرومتر) هستند. در طول متابولیسم اسید نوکلئیک، اسید اوریک تشکیل شده در مفاصل بیماران نقرس متبلور می‌شود. کریستال‌های MSU سیستم ایمنی ذاتی از جمله ماکروفاژها و PMNها را به شدت فعال می‌کنند، که منجر به حملات حاد مفصلی می‌شود که به بیماری مزمن تبدیل می‌شود. فعال شده PMN، کریستال‌های MSU را فاگوسیتوز می‌کند و ROS را توسط NOX تولید می‌کند.

اولین مطالعه در مورد القای NET توسط کریستال‌های MSU توسط Mitroulis و همکاران انجام شد (۲۰۱۱)، که نیاز اتوفاژی، سیگنال‌دهی PI3K و اسیدی شدن آندوزوم را نشان می‌دهد. در مقایسه با افراد سالم، سلول‌های سینوویال و PMN بیماران نقرس، NETها را آزاد می‌کنند. مایع سینوویال نقرس و سرم باعث ایجاد NET در PMN افراد سالم می‌شود. در NETهای استخراج شده از کریستال MSU، هیستون‌ها با DNA هم‌بیانی دارند. گرانولوسیت‌های بازوفیل آئوزینوفیل نیز NETها را در پاسخ به کریستال‌های MSU همراه با PMN آزاد می‌کنند. پیشنهاد می‌شود که مشابه به دام افتادن باکتری‌ها، NETها نیز کریستال‌ها را بی حرکت می‌کنند. NETهای متراکم (aggNETs) القا شده توسط کریستال MSU نشان داده شده است که التهاب را محدود می‌کند. غلظت بالای پروتئازهای PMN که در aggNETها یافت می‌شود، چندین سایتوکین پیش التهابی را تخریب می‌کند و از جذب لکوسیت‌های جدید جلوگیری می‌کند. تشکیل aggNETها در شرایط in vitro و in vivo میزان سیتوکین‌های پیش التهابی قابل اندازه‌گیری را به شدت کاهش می‌دهد. کمبود NOX2 و ناتوانی در تشکیل NET باعث تشدید، طولانی مدت و التهاب مزمن می‌شود. این

www.takbook.com



پدیده را می‌توان با انتقال انتخابی aggNETها به موش‌های دارای کمبود نتوزیس معکوس کرد. نقش NETها در پاتوژنز نقرس یافت شده است.

ابتدا، PMNها در تعداد زیادی در مفاصل بیماران نقرس به کار گرفته می‌شوند و سپس با کریستال‌های MSU توسط التهاب فعال شده مواجه می‌شوند. در نقرس حاد، فعال شدن PMN با درد همراه با التهاب همراه است. دوم، در مراحل بعدی حملات حاد، در تراکم بالای PMN، NETها aggNET هایی را تشکیل می‌دهند که سیتوکین‌های پیش التهابی را تخریب می‌کنند و هم‌چنین کریستال‌ها را به صورت متراکم برای توقف التهاب بسته بندی می‌کنند. AggNETs برای تشکیل توفی نقرس، یک ماده سفید که معمولاً در پایان حملات حاد ظاهر می‌شود و مشخصه فاز مزمن نقرس است. به طور کلی، تشکیل aggNET برای متوقف کردن پاسخ التهابی حاد به بهای تشکیل توفوس که با علائم نقرس مزمن همراه است، مطرح شد.

صرف‌نظر از نقش جدید پیشنهادی در پاتوژنز نقرس، اطلاعات کمی در مورد مکانیسم‌های سلولی و مولکولی و تنظیم تشکیل NET ناشی از کریستال MSU در دسترس بود، اما با ورودی تحقیقات بیشتر، مکانیسمی کشف شده است. PMNهای موش فاقدNOX2 هستند که با کریستال‌های MSU تحریک شده‌اند، NET و aggNETها را آزاد نمی‌کنند، نه در شرایط آزمایشگاهی و نه در داخل بدن. اسید اوریک محلول به طرز جالبی آزادسازی NET را به روشی مستقل از NOX تحریک می‌کند. اتوفاژی هم‌چنین برای واسطه گری تولید NET ناشی از کریستال‌های MSU و سایر محرک‌ها پیشنهاد شده است.

توسط گروهی پیشنهاد شده است که نتوزیس در واقع یک مسیر نکروپتوز خاص PMN است که شامل سیگنالینگ RIPK1-RIPK3-MLKL در کریستال MSU و تشکیل NET ناشی از PMA است. این مورد توسط امینی و همکاران به چالش کشیده شده است و نشان می‌دهد که انتشار NET می‌تواند مستقل از سیگنال‌دهی RIP3K و MLKL، حداقل در پاسخ به PMA رخ دهد.

بنابراین اختلاف در نتیجه گیری در مورد رابطه بین تشکیل NET و نکروپتوز PMN وجود دارد، از این رو، نیاز به مطالعات عمیق تر باقی می ماند. PMNها واقعاً کریستال‌های MSU را فاگوسیتوز نمی‌کنند، زیرا بیشتر کریستال‌ها به مراتب بلندتر از خود PMNها هستند. تنها

www.takbook.com



بخش کوچکی از PMNها درگیر فاگوسیتوز کریستال MSU بودند اما PMNهای آزاد کننده NET همگی با کریستال‌های MSU مرتبط بودند. می‌توان نتیجه گرفت که فاگوسیتوز کریستال MSU برای تشکیل NET ضروری است. پیشنهاد شده است که گیرنده P2Y6 پورینرژیک در این مکانیسم بر اساس کاهش شدید انتشار NET ناشی از کریستال MSU توسط مهارکننده‌های گیرنده پورینرژیک عمومی و مهارکننده اختصاصی P2Y6 Mrs2578 در این مکاتیسم درگیر است. جالب توجه است که اگزونوکلئوتیدها به تنهایی نتوانستند آزادسازی NET را در PMNهای انسانی القا کنند. از سوی دیگر Mrs2578 تولید ROS تحریک شده با کریستال MSU، آزادسازی سیتوکین و مهاجرت PMN را کاهش داد که نشان‌دهنده دخالت این مراحل در اکستروژن NET افزایش کریستال MSU است.

در یک مطالعه جداگانه مشخص شد که IL-1β مشتق شده از ماکروفاژها باعث افزایش انتشار NET ناشی از کریستال‌های MSU می‌شود. IL-1β تشکیل NET را تقویت می‌کند اما NETها، سیتوکین‌ها از جمله IL-1β را تخریب می‌کنند. پس چگونه این دو مکانیسم متضاد در داخل بدن در نقرس حاد کار می‌کنند؟ آنها به احتمال زیاد در طول فرآیند التهابی در زمان معینی از هم جدا می‌شوند. در حالی که، در مراحل اولیه اوج گرفتن نقرس، IL-1β التهاب، جذب و فعال‌سازی PMN (بخش پیش التهابی) را تحریک می‌کند، NETها بعداً زمانی که در سطوح کافی انباشته شده و قادر به تشکیل aggNET و تخریب سیتوکین (فاز ضد التهابی) هستند، اهمیت دارند. با این حال، جزئیات این مکانیسم پیچیده در داخل بدن به خوبی درک نشده است.

آنکینرا، یک آنتاگونیست قوی گیرنده IL-1، و آنتی‌بادی‌های خنثی کننده IL-1β، اثر افزایش دهنده نتوزیس ماکروفاژها و مهارکنندگی مایع سینوویال نقرس را دارند. این نتایج مکانیسم جدیدی را اضافه می‌کند که توسط آناکینرا کار می‌کند و IL-1β را به عنوان تقویت‌کننده تشکیل NET توصیف می‌کند که دو بازوی مهم آبشار التهابی در نقرس، فعال شدن التهابی در ماکروفاژها و تشکیل NET در PMNها را به هم مرتبط می‌کند، که نقش حیاتی فاگوسیت‌های کوچک، بلعیدن ذرات ریز اورات (SMA) در خون هایپر اورومیک میباشد. تشکیل این SMAها ابتدا قبل از اینکه تبدیل به کریستال‌های سوزنی شکل MSU طویل شوند که باعث انتشار NET می‌شوند، صورت می‌گیرد. فاگوسیت‌ها SMAها را می‌گیرند و از تشکیل کریستال‌های MSU و NETها در گردش خون جلوگیری می‌کنند.

www.takbook.com



کریستال‌های MSU برای مدت طولانی از نظر بالینی غیرفعال می‌مانند، اما وقتی در aggNETهای بزرگ به دام می‌افتند، التهاب بهبود می‌یابد و در نتیجه، یک ماده بی‌شکل از توفوس تشکیل می‌شود که می‌تواند از نظر بالینی برای مدت طولانی غیرفعال بماند. این مکانیسم اساس تشکیل گرانولوم در بیماران نقرس است.

## بلورهای کلسیم پیروفسفات دی هیدرات (CPPD)

نقرس کاذب که به عنوان بیماری رسوب پیروفسفات کلسیم نیز شناخته می‌شود، نوعی آرتریت است. این باعث حملات خود به خودی و دوره‌ای حاد مفصلی می‌شود که به طور بالقوه به یک بیماری مزمن با تورم دردناک در مفاصل تبدیل می‌شود. نقرس کاذب وضعیتی مشابه نقرس است اما عامل ایجاد کننده آن متفاوت است، یعنی کریستال‌های CPPD می‌باشد. در مقایسه با کریستال‌های MSU، کریستال‌های CPPD به طور مشخص کوتاه‌تر و از نظر ساختاری شکل لوزی هستند درحالی‌که MSU کریستال‌های سوزنی‌مانند هستند و NET قوی را القا می‌کنند. تغییرات مورفولوژیکی در هسته‌ها که در طی تحریک کریستال CPPD رخ می‌دهد مشابه القای PMA است. مراحل مکانیکی در طول این تحریک شامل از دست دادن تقسیمات در هسته، تجزیه مواد هسته‌ای، ظهور NETهای پراکنده و به دنبال آن NETهای با تمام علائم بود. برای NET ناشی از کریستال CPPD، فعالیت HSP 90، PI3K و CXCR2 مورد نیاز است درحالی‌که فعالیت NOX2 برای تشکیل NET تحریک شده با کریستال MSU ضروری است. از این رو، هر دو این کریستال‌ها NET را از طریق مسیرهای سیگنالینگ مختلف القا می‌کنند.

## زاج (آلوم)

مکانیسم دقیق عمل زاج که به عنوان موفق‌ترین ادجوانت توصیف می‌شود، تا حد زیادی ناشناخته است. میکروکریستال‌های موجود در آلوم‌ها به عنوان ذخیره آنتی ژن عمل می‌کنند که با افزایش فاگوسیتوز آنتی ژن بر روی سلول‌های ارائه دهنده آنتی‌ژن، اثربخشی واکسن ها را افزایش می‌دهد. در محل واکسیناسیون، PMNها به سرعت جذب می‌شوند که بر تغییر قابل توجه در مراحل اولیه پاسخ ایمنی تاکید دارند. از این رو، یک مطالعه تعاملی بین PMN و ادجوانت‌ها از اهمیت بالینی برخوردار است. پس از قرار گرفتن در معرض

www.takbook.com



کریستال آلوم، PMNها DNA خود را مستقل از تولید ROS آزاد می‌کنند زیرا آزمایش‌ها نشان داده‌اند که بازدارنده اکسیداز DPI هیچ اثری از خود نشان نمی‌دهد.

## کریستال‌های کلسترول

مشخص شده است که IL-1β در پاتوژنز آترواسکلروز نقش دارد، اما مکانیسمی که توسط آن سیتوکین توسط ماکروفاژها آزاد می‌شود تا حد زیادی ناشناخته است. برای ترشح IL-1β توسط ماکروفاژها هر دو PMN و NET مورد نیاز هستند و این منجر به جذب سایر PMNها در محل ضایعات آترواسکلروتیک می‌شود. این کریستال‌ها در محدوده غلظت، تشکیل NET را در شرایط آزمایشگاهی در PMNهای انسانی فعال کننده التهاب تحریک می‌کنند. مهار کننده NOX2 ، DPI، آزادسازی NET را مسدود می‌کند، از سوی دیگر، کریستال‌های کلسترول باعث تحریک تولید ROS می‌شود. در طی تشکیل NET ناشی از کریستال کلسترول، نوتروفیل الاستاز (NE) در هسته جابجا می‌شود اما مهارکننده PAD4، CL-آمیدین، تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد. NETهای القا شده توسط کریستال کلسترول باعث افزایش انتشار سیتوکین توسط ماکروفاژها می‌شود که منجر به فعال شدن سلول‌های Th17 و افزایش جذب لکوسیت می‌شود.

## کریستال سیلیس

قرار گرفتن مزمن در معرض کریستال‌های سیلیس منجر به سیلیکوزیس ریوی یا بیماری انسدادی مزمن ریه (COPD) می‌شود و هم‌چنین با واسکولیت یا نارسایی مزمن کلیوی همراه است. COPD اصطلاحی است که برای بیماری‌های پیشرونده ریوی شامل: آمفیزم، التهاب برونشیت‌ها و آسم غیرقابل برگشت به کار می‌رود. التهاب توسط کریستال‌های سیلیس فعال شده و توسط سلول‌های ایمنی از جمله PMN فاگوسیتوز می‌شود. NETهای مرتبط با گلومرولونفریت و واسکولیت عروق کوچک به عنوان منبع آنتی‌بادی‌های سیتوپلاسمی ضد نوتروفیل عمل می‌کنند. اگرچه تحریک کریستال سیلیکا PMNهای موش منجر به انتشار ROS می‌شود، ارتباط in vivo این یافته هنوز ثابت نشده است. این NETهای ناشی از کریستال به بیماری ریه مربوط می‌شوند. هم در مدل‌های حیوانی و هم در بیماران انسانی، PMNها در ریه‌ها در سیلیکوزیس به تعداد زیاد وجود دارند.

www.takbook.com



در مقایسه با کریستال‌های MSU، DNA آزاد شده از PMNها پس از القای کریستال‌های سیلیکا قابل مقایسه است، در حالی که ائوزینوفیل‌ها NETها را در حضور کریستال‌های سیلیکا آزاد نمی‌کنند.

## نانو ذرات

نانوذرات با اندازه کوچک (NPs) مانند ادجوانت عمل می‌کنند و با فعال کردن واکنش‌های التهابی و آسیب بافتی، از پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولی خاصی پشتیبانی می‌کنند. NPها ذراتی با سایز حدود ۱ تا ۱۰۰ نانومتر و تشکیل شده از کربن، فلز و اکسیدهای فلزی یا مواد ارگانیک هستند. آن‌ها در مقایسه با ذرات مربوطه خود در مقیاس‌های بالاتر، خواص فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی منحصر به فردی را در مقیاس نانو نشان می‌دهند. این امر به دلیل سطح نسبتاً بزرگتر نسبت به حجم، افزایش واکنش‌پذیری یا پایداری در فرآیندهای شیمیایی، افزایش استحکام مکانیکی و غیره رخ می‌دهد. این خواص نانوذرات منجر به استفاده از آن‌ها در کاربردهای مختلف شده است. NPها علاوه بر تفاوت در اجزا تشکیل‌دهنده، در ابعاد، شکل و اندازه‌شان متفاوت هستند.

NP می‌تواند یک صفر بعدی باشد که در آن طول، عرض و ارتفاع در یک نقطه ثابت باشد، به عنوان مثال، نقطه‌های نانو. یک بعدی که می‌تواند فقط یک پارامتر داشته باشد، به عنوان مثال، گرافن. دو بعدی که دارای طول و عرض باشد، مثلاً نانولوله‌های کربنی یا سه بعدی که تمام پارامترها مانند طول، عرض و ارتفاع را داشته باشد، مثلاً نانوذرات طلا. NPها شکل، اندازه و ساختار متفاوتی دارند. ممکن است کروی، استوانه‌ای، لوله‌ای، مخروطی، هسته توخالی، مارپیچی، مسطح یا نامنظم باشد. سطح می‌تواند یکنواخت یا نامنظم با تغییرات سطحی باشد. برخی از NPها کریستالی یا آمورف با جامدات تک یا چند کریستالی غیرمتراکم یا آگلومره هستند.

پیش از این، تحقیقات مربوط به قرار گرفتن نوتروفیل‌ها در معرض نانومواد بر روی مطالعات مربوط به سمیت سلولی، جذب فاگوسیتیک و دگرانولاسیون متمرکز بود. پس از آن مشخص شد که نانوالماس‌ها باعث ایجاد نکروز و التهاب استریل خود محدود می‌شوند. این نانوساختارها باعث ایجاد نتوزیس در نوتروفیل‌های کشت شده می‌شوند.

www.takbook.com



اندازه NPها برای تعیین نتوزیس بسیار مهم است و این با حل التهاب اولیه نوتروفیلی در کیسه‌های هوا مرتبط است. اندازه نقش مهمی ایفا می‌کند زیرا گرانولوسیت‌های آزمایشگاهی ریزالماس‌های ۱ میکرون را نمی‌گیرند، در حالی که نانوالماس‌های کوچک به دلیل اندازه کوچک‌تر و آب‌گریزی شان باعث ایجاد نتوزیس می‌شوند. اندازه و خواص این نانوذرات در مقایسه با پاتوژن‌هایی مانند باکتری‌ها یا مخمرها تا حد زیادی متفاوت است، از این رو، نوتروفیل‌ها نسبت به نانوالماس‌ها به عوامل بیماری‌زا واکنش متفاوتی نشان می‌دهند. از آنجایی که نانوالماس‌ها در شرایط آزمایشگاهی باعث آسیب سلولی گسترده می‌شوند و در محل تزریق باقی می‌مانند، می‌توان فرض کرد که آن‌ها التهاب مزمن را پس از تزریق داخل بدن تحریک می‌کنند.

برای برهم‌کنش قوی ذرات آب‌گریز با دو لایه فسفولیپیدی اندازه ۱۰ نانومتر پیش‌بینی شده است. به دلیل حضور فراوان NPهای غیرقطبی در محیط، مطالعه توانایی موجودات زنده در به دام انداختن NPها از طریق تشکیل NETها بسیار مهم است. هنگامی که نانوذرات با اندازه‌های بین ۱۰ تا ۴۰ نانومتر با انواع سلول‌ها و بافت‌های مختلف برهم‌کنش می‌کنند، باعث آسیب سریع (کمتر از ۲۰ دقیقه) غشای پلاسما می‌شوند و محفظه لیزوزومی به طور کلی ثبات خود را از دست می‌دهد که منجر به تشکیل فوری NETها می‌شود. از سوی دیگر، ذرات با اندازه بین ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ نانومتر بی‌اثر هستند. تداوم NPهای کوچک در مفاصل باعث آرتریت دائمی و بازسازی استخوان می‌شود. NPهای کوچک همزمان با آنتی‌ژن، فعالیت ادجوانت مانندی داشتند. هیچ اطلاعاتی در مورد جذب NPs توسط نوتروفیل‌ها از طریق گیرنده خاص در دسترس نیست. نانوذراتی که آب‌گریزی بالاتری دارند مستقیماً با لیپیدهای غشای سلولی تعامل دارند.

در حالی که گلبول‌های قرمز (RBCs) در معرض نانوالماس‌هایی با اندازه‌های مختلف قرار می‌گیرند، باعث افزایش گرانولاریتی سلول‌ها و آسیب به غشای گلبول‌های قرمز می‌شوند که وابسته به فعال‌سازی سیستم کمپلمان نیست، زیرا تمام نانوذرات آبشار کمپلمان را به یک اندازه و بدون توجه به اندازه خود فعال می‌کنند.

یک پاسخ التهابی فوری با به دام افتادن NPs در NETها شروع می‌شود که دارای مکانیسم ذاتی برای رفع التهاب است. سد غشای سلولی خارجی و داخلی و خاصیت انتخاب یونی با القای نانوذرات با اندازه کوچک مختل می‌شود. بنابراین منجر به آزاد شدن واسطه‌هایی با

www.takbook.com



وزن مولکولی کم بین بخش‌های سلولی می‌شود. پس از آسیب، غشاها برای بازیافت بلعیده می‌شوند و با لیزوزوم های اولیه ترکیب می‌شوند، فاگولیزوزوم تشکیل می‌شود.

افزایش تولید ROS و فعال شدن بیشتر مسیرهای درون سلولی، در نهایت منجر به از بین رفتن تراکم و هم‌چنین برون سازی کروماتین می‌شود. برای مقابله با نفوذ NPها به سدهای طبیعی، بدن دو استراتژی را ایجاد می‌کند، یکی در ریه‌ها و دیگری در بافت‌ها. در ریه، فاگوسیت‌های تک هسته‌ای NPها را به یکباره می‌گیرند و در عرض ۲ هفته بدون ایجاد علائم التهاب معین پاک می‌کنند. برعکس، NPها توسط aggNETهای بینابینی در بافت‌های بدن بی حرکت می‌شوند. مهار NPها در این aggNETها و تخریب پروتئولیتیکی واسطه‌های پیش التهابی توسط پروتئازهای سرین متصل به NET از نظر زمانی و مکانی پاسخ اولیه را محدود می‌کند و بهبود التهاب موضعی را تنظیم می‌کند.

نانوذرات نقره (AgNPs) با قطر اولیه ۲۰ نانومتر باعث القای آپوپتوز در نوتروفیل‌های انسانی می‌شوند.

AgNP با اندازه ۱۵ نانومتر با مکانیسمی که شامل کاسپازهای التهابی ۱ و ۴ و هم‌چنین تولید ROS می‌شود باعث مرگ سلولی در PMNهای انسانی می‌شود.

با این حال، انتشار NET ناشی از AgNP15 توسط مهارکننده‌های کاسپاز-۱ و ۴ و آنتی اکسیدان n-استیل سیستئین معکوس نمی‌شود.

## تشکیل NET در شرایط هایپوکسیک

در چرخه زندگی موجودات هوازی، اکسیژن ($O_2$) یک عنصر ضروری است. نقش اصلی اکسیژن به این دلیل است که پذیرنده نهایی الکترون‌ها در زنجیره تنفسی میتوکندری است. این اجازه می‌دهد تا فرآیند فسفوریلاسیون اکسیداتیو و تولید انرژی سلولی به شکل ATP انجام شود. ATP در انجام بیشتر واکنش‌هایی که برای حفظ زنده ماندن سلولی ضروری هستند، دخیل است. برای زنده ماندن تحت نورموکسی، یک سلول به طور مداوم نسبت ATP/ADP سلولی را بالا و ثابت نگه می دارد. وابستگی سلول‌ها به نسبت ATP/ADP ثابت بالا به معنای وابستگی به اکسیژن است. کاهش سطح اکسیژن طبیعی هایپوکسی نامیده می‌شود و این امر بر روی زنده ماندن سلول تأثیر می‌گذارد. هایپوکسی نه تنها در شرایط

www.takbook.com



مختلف از جمله شرایط پاتوفیزیولوژیک مانند تصلب شرایین، آپنه انسدادی خواب، بیماری کوهستان، بیماری‌های ایسکمیک (سکته مغزی) و سرطان، بلکه در فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند رشد جنینی نیز دیده می‌شود.

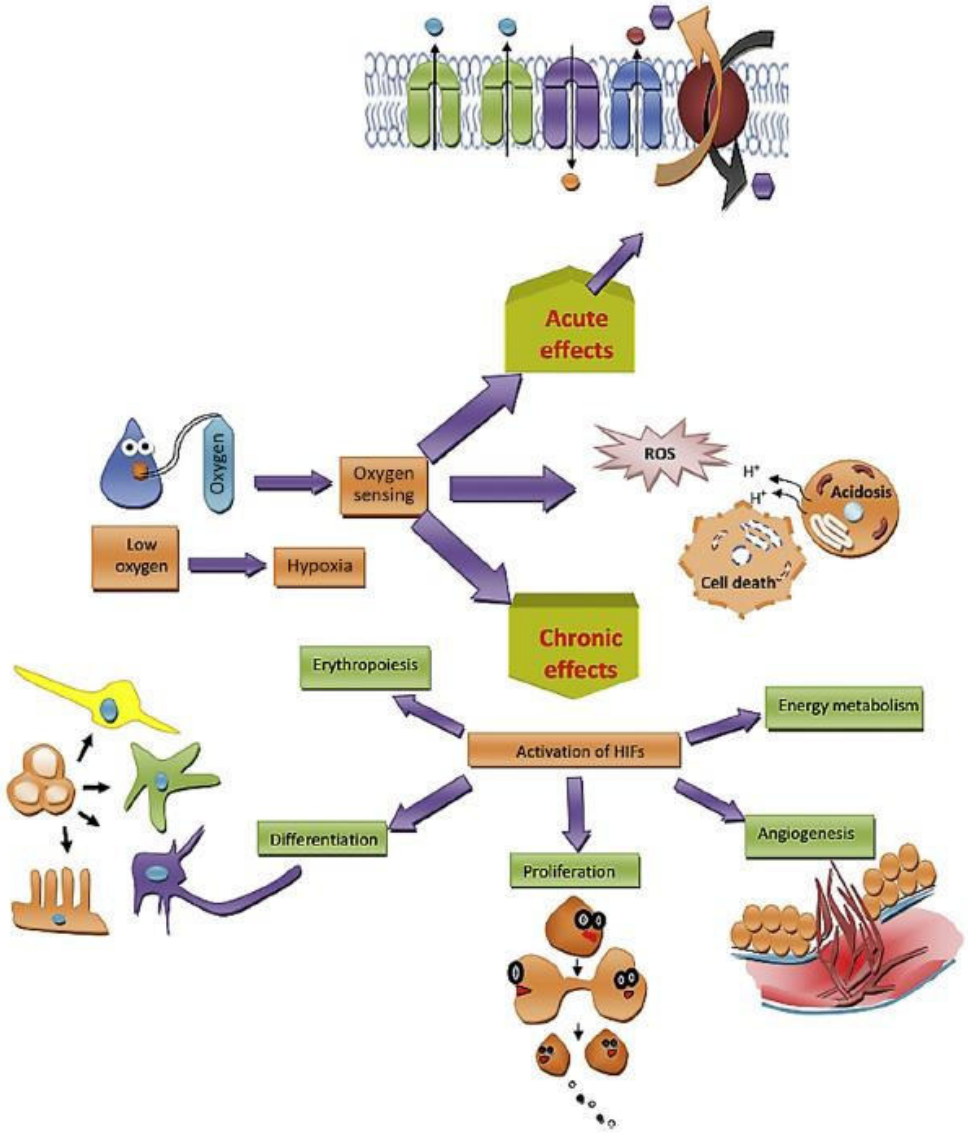
اصطلاحات مختلفی در رابطه با کاهش عرضه اکسیژن استفاده شده است. اصطلاح هایپوکسمی به عنوان کاهش اکسیژن خون تعریف می‌شود. هایپوکسی به عنوان کاهش اکسیژن رسانی به سطح ناکافی برای حفظ عملکرد سلولی تعریف می‌شود. هایپوکسی ایسکمی مخفف فرآیندهای هایپوکسی همراه با ایسکمی است. ایسکمی با هایپوکسی متفاوت است زیرا نه تنها کاهش عرضه اکسیژن است، بلکه شامل کاهش جریان خون نیز می‌شود که منجر به کاهش عرضه مواد مغذی و تجمع محصولات متابولیک مانند دی اکسید کربن، اسید لاکتیک و آمونیاک می‌شود. علاوه بر این، پاسخ هایپوکسی را می‌توان به مقیاس های زمانی مختلف تقسیم کرد: پاسخ حاد، متوسط و مزمن (شکل ۴-۳) و سطوح مختلف غلظت اکسیژن: متوسط ($O_2$ ۵٪ تا ۸٪) و سطح بدون اکسیژن ($O_2$ کمتر از ۱) (نورموکسی ۲۱٪ $O_2$ است). مغز به دلیل نیاز به اکسیژن زیاد، حساس‌ترین اندام به هایپوکسی در نظر گرفته می‌شود، درحالی‌که ماهیچه‌های اسکلتی یکی از مقاوم‌ترین اندام‌ها به هایپوکسی هستند.

## اثرات سلولی هایپوکسی

مطالعات اندکی در مورد ارزیابی اثر هایپوکسی بر تشکیل NET انجام شده است و در این یافته‌ها اختلافاتی وجود دارد. برخی از مطالعات نشان داده‌اند که هایپوکسی تشکیل NETها (شکل ۳-۴) و چسبندگی به سلول‌های اندوتلیال را افزایش می‌دهد. بیان مولکول چسبندگی در سلول‌های اندوتلیال ورید ناف انسان (HUVECs)، چسبندگی نوتروفیل‌ها به تک‌لایه‌های HUVEC و نتوزیس، با تغییر به هایپوکسی تعدیل می‌شوند. تشکیل NET هم‌چنین برای افزایش هایپوکسی داخل تومور در تومورهای متاستاتیک دیده شده است. با این حال، در مطالعه دیگری، مشخص شد که نوتروفیل‌های ناشی از PMA، کاهش قابل توجهی در تشکیل NET نشان می‌دهند. با این حال، تشکیل NET ناشی از S.aureas در مقایسه با شرایط نرموکسی بی‌تأثیر بود که نشان‌دهنده این است که محرک‌های مختلف ممکن است تأثیر متفاوتی از القای NET در طول هایپوکسی داشته باشند.

www.takbook.com






شکل ۳-۴. اثرات سلولی هایپوکسی. وقتی عرضه اکسیژن به سطحی کاهش می‌یابد که برای حفظ عملکرد سلولی کافی نیست. منجر به پاسخ‌های بحرانی خاصی می‌شود که می‌توانند حاد یا مزمن باشند. پاسخ حاد می‌تواند هموستاز یونی را مختل کند. پاسخ مزمن شامل فعال‌سازی و تثبیت عوامل القاکننده‌هایپوکسی (HIFs) است. HIFها ژن‌های دخیل در اریتروپویتین را تنظیم می‌کنند. بیان ژن اریتروپویتین در طول هایپوکسی افزایش می‌یابد و اکسیژن رسانی به بافت را افزایش می‌دهد. HIF-1 هم‌چنین VEGF، TGF-β و آنژیوپوئیتین را فعال می‌کند که در رگ‌زایی نقش دارند. تولید ATP توسط فسفوریلاسیون اکسیداتیو در طول هایپوکسی متوقف می‌شود. HIF هم‌چنین متابولیسم گلوکز را تنظیم می‌کند. تمایز سلولی در تعداد سلول‌ها در طول هایپوکسی افزایش می‌یابد. HIFها با مولکول‌هایی که برای تنظیم تمایز سلول‌ها حیاتی هستند، از جمله notch، oct-4 و MYC ارتباط دارند. فاکتورهای رشد فوری مانند TGF-α و IGF-2 ژن‌های هدف HIF-1 هستند که مسیرهای انتقال سیگنال را فعال می‌کنند که منجر به تکثیر سلولی و بقا می‌شود. هموستاز pH سلولی در طول هایپوکسی مختل می‌شود که منجر به اسیدوز می‌شود. HIF-1 باعث القای خانواده Bcl-2

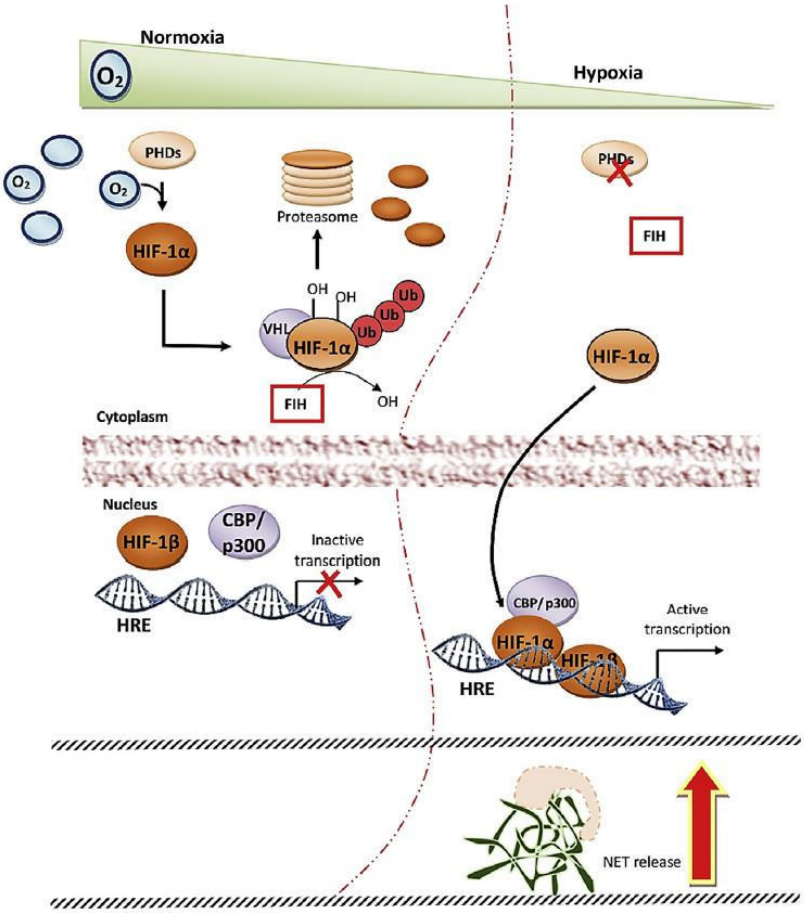
www.takbook.com



**می‌شود که منجر به مرگ سلولی می‌شود. از این رو همه این‌ها پاسخ‌های سلولی مختلفی را در طول هایپوکسی به منظور مبارزه و حفظ هموستاز اکسیژن نشان می‌دهند.**

## هایپوکسی باعث افزایش NETosis می‌شود.

در طول عفونت یا التهاب، مصرف بیش از حد اکسیژن توسط پاتوژن‌ها و جذب سلول‌های ایمنی وجود دارد که باعث هایپوکسی می‌شود. فاکتور ۱α قابل القا شونده توسط هایپوکسی (HIF-1α)، وضعیت هایپوکسی القایی را تنظیم می‌کند. HIF-1α توسط کلات کننده آهن HIF-1α آگونیست دسفروکسامین یا AKB-4924 تثبیت می‌شود که باعث افزایش آزادسازی تله‌های خارج سلولی فاگوسیت می‌شود (شکل ۳-۵).




**شکل ۳-۵. هایپوکسی NETosis را افزایش می‌دهد. در طول نورموکسی، HIF-1α توسط پروتئین‌های دمین هیدروکسیلاز پرولیل (PHD) حساس به اکسیژن، هیدروکسیله می‌شود که سپس با کمپلکس لیگاز فون هیپل لیندو (pVHL) حاوی یوبیکوئیتین E3 در تعامل است. توسط این HIF-1α برای تخریب پروتئازومی هدف قرار می‌گیرد. HIF-1α توسط فاکتور مهارکننده HIF-1α (FIH-1) که آنزیمی حساس به اکسیژن است، هیدروکسیله شده و باعث مهار تعامل با کواکتیویتور (فعال کننده رونویسی) CBP/p300 (سرکوب کننده فعالیت ترانس اکتیواسیون FIH-1) می‌شود.**

www.takbook.com



**درحالی‌که، در طول هایپوکسی، PHDها و FIH-1 غیر فعال می‌شوند که منجر به دیمر شدن HIF 1α با HIF-1β می‌شود، این هترودایمر به هسته منتقل می‌شود و به HRE موجود در ژن‌های هدف متصل می‌شود. CBP/p300 باعث غیرفعال شدن FIH-1 می‌شود و رونویسی را فعال می‌کند. افزایش NETosis در طول هایپوکسی مشاهده شده است.**

تغییرات عمده‌ای در سطح اکسیژن در بین گردش خون شریانی و وریدی وجود دارد که نوتروفیل‌ها با آن مواجه می‌شوند. سلول‌هایی که دور از مویرگ‌ها قرار دارند در شرایط «هایپوکسی فیزیولوژیکی» زنده می‌مانند. عفونت و التهاب یک وضعیت "هایپوکسی پاتولوژیک" را نشان می‌دهد. در حالی که کموتاکسی نوتروفیل و فاگوسیتوز تحت شرایط هایپوکسی عمیق حفظ می‌شود، توانایی ایجاد یک انفجار اکسیداتیو و در نتیجه کشتن ارگانیسم‌ها، مانند استافیلوکوکوس اورئوس، به طور قابل‌توجهی مختل می‌شود، از آنجایی که پروتئازهای مشتق از نوتروفیل چنین نقش کلیدی در پاتوژنز COPD و فیبروز کیستیک ایفا می‌کنند و هایپوکسی بافت موضعی به شدت با التهاب راه هوایی در این شرایط مرتبط است.

NF-kβ با واسطه HIF-1α فعال شده، آپوپتوز را مهار می‌کند که منجر به افزایش بقای نوتروفیل می‌شود. انتشار تمام جمعیت گرانول نوتروفیلی اصلی تحت شرایط هایپوکسی تنظیم می‌شود که منجر به آسیب سلول‌های اپیتلیال تنفسی در شرایط آزمایشگاهی می‌شود. این توسط HIF-1α واسطه نمی‌شود، بلکه به دلیل افزایش فسفوریلاسیونAKT نوتروفیل پایه و تحریک شده به وسیله سیتوکین است.

PI3Kγ نقش مهمی در دگرانولاسیون افزایش یافته هیپوکسی ایفا می‌کند. نوتروفیل‌ها تحت شرایط هایپوکسی و نورموکسی که بر اهمیت سطح فیزیولوژیکی اکسیژن در زمینه عملکرد نوتروفیل‌ها تأکید می‌کند، رفتار متفاوتی دارند.

## نقش pH در القای تله خارج سلولی نوتروفیل

اسیدی شدن محیط اطراف یک ویژگی کلی در پاتولوژی‌های انسانی مانند تومور و التهاب است. تغییر در شرایط pH باعث تغییر عملکرد سلول‌های ایمنی می‌شود. اسیدی شدن خارج سلولی تعدیل کننده حیاتی ایمنی ذاتی است. در محیط اسیدی، آپوپتوز نوتروفیل به تأخیر می‌افتد، انفجار تنفسی مهار می‌شود، پلاریزاسیون تقویت می‌شود، کموتاکسی تغییر می‌یابد، اندوسیتوز افزایش می‌یابد و باکتری‌های کشنده سرکوب می‌شوند. مشخص شده است که پاسخ ایمنی نوتروفیل‌ها را می‌توان با تغییر pH خارج سلولی تغییر داد. اسیدی شدن محیط

www.takbook.com



محلی یک ویژگی مشترک در برخی شرایط پاتولوژیک است. اسیدی شدن خارج سلولی با فرآیند التهاب همراه است و مقدار pH ریزمحیط ۷-۵/۵ می‌شود.

چنین تغییراتی در pH خارج سلولی ممکن است تغییرات قابل توجهی در پاسخ ایمنی بدن ایجاد کند. مطالعات نشان می‌دهد که اسیدی شدن خارج سلولی میتواند آزادسازی واسطه التهابی را تغییر دهد و انواع مختلف اسیدها در مقدار pH خاص می‌توانند تغییرات متفاوتی ایجاد کنند. علاوه بر این، اسیدی شدن خارج سلولی هم‌چنین نقش مهمی در تعدیل عملکرد سلول‌های ایمنی، از جمله لکوسیت‌های پلی مورفونکلئر، ماکروفاژها، و لنفوسیت‌ها ایفا می‌کند. با مهاجرت از خون به بافت‌های مجاور، نوتروفیل‌ها با تغییراتی در شرایط pH خارج سلولی (pHe) مواجه می‌شوند. NOX2 فعال شده باعث افزایش غلظت یون‌های $H^+$ و کاهش pH داخل سلولی (pHi) می‌شود. پیشنهاد شده است که نتوزیس با افزایش pH، تحریک می‌شود که منجر به افزایش تولید ROS با واسطه NOX همراه با فعالیت پروتئاز نوتروفیل می‌شود. با افزایش pHe، pH نوتروفیل‌های فعال و در حال استراحت افزایش می‌یابد. در مقایسه با نوتروفیل‌های در حال استراحت، نوتروفیل‌های فعال شده دارای pH کمتری هستند زیرا غلظت یون‌های $H^+$ به دلیل فعالیت NOX افزایش می‌یابد. القای نتوزیس با PMA منجر به افزایش تولید ROS وابسته به NOX به دلیل pH بالاتر می‌شود. افزایش pH باعث تحریک برش هیستون H4 و هم‌چنین نتوزیس در نوتروفیل‌های فعال می‌شود. pHe بالاتر از تولید ROS وابسته به NOX، فعالیت پروتئاز و نتوزیس پشتیبانی می‌کند و بالعکس. افزایش pH توسط بی کربنات سدیم یا تریس بیس (که از نظر بالینی به نام‌های تریس هیدروکسی متیل آمینو متان، ترومتامین یا THAM شناخته می‌شود) باعث افزایش نتوزیس می‌شود، بنابراین pH تشکیل NET را تنظیم می‌کند. مقدار محلول تریس مورد نیاز برای افزایش pH کمتر از محلول بی کربنات هم مولار است زیرا یک مولکول تریس می‌تواند به یون‌های $3H^+$ متصل شود، برخلاف این، هر یون بی کربنات ($HCO3^-$) به یون $1H^+$ متصل می‌شود.

هنوز به خوبی مشخص نشده است که pH چگونه بر تشکیل NET وابسته به کلسیم غیر وابسته به NOX تأثیر می‌گذارد. مراحل مکانیکی تشکیل NET مستقل از NOX شامل هجوم کلسیم، تولید گونه‌های اکسیژن فعال میتوکندری (mROS) و سیترولیناسیون هیستون همراه با برش هیستون است.

www.takbook.com



افزایش pH بر نتوزیس مستقل از NOX وابسته به کلسیم تأثیر می‌گذارد. افزایش جزئی در pH به طور قابل توجهی غلظت کلسیم داخل سلولی را به ترتیب در نوتروفیل‌های در حال استراحت و تحریک شده افزایش می‌دهد. مانند کلسیم، تولید mROS نیز با افزایش pH، افزایش می‌یابد. فقدان یا وجود شکاف در سلول‌های تحریک نشده، در هر pH مشاهده شد. هم سیترولیناسیون هیستونی (CitH3) و هم برش هیستون‌ها، تراکم‌زدایی DNA را تسهیل می‌کنند. بنابراین، افزایش pH فعالیت PAD4 را افزایش می‌دهد همان‌طور که می‌توان با CitH3 و برش هیستون ارزیابی کرد. بر خلاف یونوفورهای کلسیم، زمانی که نتوزیس توسط یونومایسین القا شود، برش هیستون وابسته به pH بیشتر است. در هر pH، سلول‌های تحریک‌نشده، شکاف هیستونی بسیار کم یا فقدان هر گونه شکاف هیستونی را نشان می‌دهند.

www.takbook.com

# فصل چهارم:

## نتوزیس در نوزادان

پس از مواجهه با تهدیدات خارجی مانند تهاجم میکروبی، نوتروفیل‌ها اولین لکوسیت‌هایی هستند که به محل التهاب می‌رسند تا عملکرد خود را در فاگوسیتوز کردن میکروب‌ها و در نهایت کشتن آن‌ها انجام دهند. علاوه بر این، نوتروفیل‌ها از دو رویکرد دیگر برای مبارزه با پاتوژن‌ها استفاده می‌کنند: دگرانولاسیون، یعنی آزادسازی پروتئازها و مولکول‌های مؤثر از گرانول‌هایشان و تشکیل تله خارج سلولی نوتروفیل (NET) که تشکیل ساختار شبکه‌ای برای به دام انداختن و کشتن پاتوژن‌ها است.

Brinkmann به همراه همکاران در سال ۲۰۰۴ برای اولین بار فعالیت NET را گزارش کرد، نشان داد که NET می‌تواند توسط اینترلوکین ۸ (IL-8)، فوربول ۱۲ میستررات ۱۳ استات (PMA) و لیپوپلی ساکارید (LPS) القا شود. همان‌طور که از طریق میکروسکوپ الکترونی روبشی و کانفوکال مشاهده می‌شود و با تجزیه و تحلیل پروتئومی بیشتر تایید می‌شود، ساختار NETها با رشته‌های کروماتین (DNA و هیستون‌ها) همراه با پپتیدهای ضد میکروبی مختلف - نوتروفیل الاستاز (NE)، میلوپراکسیداز (MPO) پروتئیناز ۳، کاتپسین G، پروتئین افزایش‌دهنده نفوذپذیری/ باکتری کشی (BPI)، دفنسین‌ها و کاتلیسیدین-LL)

www.takbook.com



(37 مجهز است. تشکیل NET می‌تواند باعث آسیب بافتی همراه با به دام انداختن پاتوژن‌ها شود. جالب اینجاست که NET هم اثر مفید و هم مضر در بافت دارد.

تشکیل NET یک مکانیسم دفاعی منحصربه‌فرد نوتروفیل‌های پلی‌مورفونوکلئر (PMNs) است که به آن‌ها اجازه می‌دهد میکروب‌ها را در فضای خارج سلولی جذب، بی‌حرکت و در نهایت از بین ببرند. تشکیل NET توسط یک فرآیند مرگ سلولی جدید که اغلب نتوزیس نامیده می‌شود رخ می‌دهد، اگرچه نتوزیس "حیاتی" که در آن نوتروفیل‌ها بلافاصله نمی‌میرند نیز توصیف شده است. مکانیسم‌های مولکولی که منجر به تشکیل NET می‌شوند کاملاً درک نشده‌اند و احتمالاً به نوع محرک بستگی دارند. با این حال، تراکم‌زدایی کروماتین و اکستروژن DNA همراه با هیستون‌ها و محتویات گرانول رویدادهای مهمی هستند.

گمان میرود که دآمیناسیون هیستون‌ها با واسطه پپتیدیل آرژنین دیمیناز ۴ (PAD4)، پیش نیازی برای تراکم‌زدایی هسته‌ای و تشکیل NET باشد. به دام انداختن و حذف پاتوژن‌ها با تسهیل NET شاید مکمل فعالیت‌های ضد میکروبی مرسوم PMN از جمله فاگوسیتوز و کشتن درون سلولی باشد.

مشاهدات بالینی به وضوح نشان می‌دهد که تشکیل ناکارآمد NET به عفونت‌های غیرقابل درمان در برخی از رخدادها کمک می‌کند، اما اهمیت NETها در کشتن پاتوژن در داخل بدن نامشخص و قابل بحث باقی مانده است. مدل‌های تجربی و برخی مطالعات بالینی نشان می‌دهند که تشکیل NET داخل یا خارج عروقی به آسیب بافتی در باکتریمی، آسیب حاد ریه مرتبط با انتقال خون، اختلال عملکرد پیوند اولیه پس از پیوند ریه، واسکولوپاتی‌های استریل و التهاب ایمنی، ترومبوز کمک می‌کند.

بنابراین تشکیل NET ممکن است یک فعالیت ناسازگار و بی ثبات مهم نوتروفیل‌ها باشد که در معرض تحریک نامناسب یا تنظیم نشده در عفونت و التهاب است.

## فعالیت نوتروفیل‌ها در دوران بارداری و در نوزادان

در دوران بارداری، سیستم ایمنی نقش تعدیلی برای محافظت از مادر و جنین بدون تأثیر بر رشد جنین ایفا می‌کند. بارداری حساس ترین شرایطی است که در آن مادر و جنین با آرامش همکاری می‌کنند تا جنین را از تشخیص و عدم پذیرش ایمونولوژیک محافظت کنند.

www.takbook.com



دوره بارداری با تغییرات تعدیل‌کننده ایمنی در هر مرحله از بارداری همراه با تعامل با عوامل بیماری‌زا مشخص می‌شود. علاوه بر این، حاملگی شامل فاز پیش التهابی در سه ماهه اول، فاز ضدالتهابی در سه ماهه دوم، و بازگشت مجدد به فاز پیش التهابی در پایان بارداری است. مشاهده شده است که زنان باردار بیشترین تعداد لکوسیت‌ها را در طول دوران بارداری دارند و نوتروفیل‌ها نیز در حداکثر تعداد آن‌ها وجود دارند. با این حال، این نوتروفیل‌ها انفجار تنفسی را در زمان سه ماهه دوم و سوم کاهش داده‌اند و فعالیت آن‌ها طی ۷ هفته پس از زایمان به حالت عادی باز می‌گردد. مقادیر بالایی از DNA بدون سلول (cfDNA) (کمپلکس‌های نوکلئوزوم/MPO) در سرم زنان باردار در مقایسه با زنان غیرباردار وجود دارد.

تشکیل کمپلکس‌های نوکلئوزوم/MPO در بارداری با پره اکلامپسی در مقایسه با زنان با بارداری طبیعی افزایش می‌یابد زیرا بالاترین سطح cfDNA سرمی در زنان مبتلا به پره اکلامپسی مشاهده می‌شود.

به طور قابل توجه، مشخص شده است که گردش DNA پلاسمایی جنین و مادر از زنان پره اکلامپسی متناسب با درجه شدت بیماری است. جنین این توانایی را دارد که سیستم ایمنی خود را در رحم توسعه دهد. بلافاصله پس از تولد، هم نوزادان ترم و هم نارس تعداد سلول‌های ایمنی بدنشان کاهش می‌یابد، که مشاهده می‌شود که در هفته‌های اولیه زندگی آنها افزایش می‌یابد. نوتروفیل‌ها در مغز ترقوه پس از ۱۱ و ۱۲ هفته از لقاح شروع به تشکیل می‌کنند که پس از ۱۳ و ۱۵ هفته به حداکثر تعداد می‌رسد. نوتروفیل‌ها فراوان‌ترین سلول‌های ایمنی در نوزادان هستند زیرا نوروپویزیس در کبد جنین و کیسه زرده در هفته پنجم شروع می‌شود. در بزرگسالان، نوتروفیل‌ها می‌توانند به محل عفونت مهاجرت کنند و به طور موثر با فاگوسیتوز یا دگرانولاسیون با پاتوژن‌ها مبارزه کنند.

نوزادان ترم مانند بزرگسالان در انجام گرانولاسیون و فاگوسیتوز به همان اندازه کارآمد هستند. با این حال، هر دو عملکرد این نوتروفیل‌ها در نوزادان نارس مختل می‌شوند. توسط McEvoy، Zakem-Cloud، Nussbaum و همکاران (۲۰۱۳) گزارش شده است که نوتروفیل‌های ترم و زودرس توانایی مهاجرت به محل التهاب و عفونت را مختل کرده‌اند. فعالیت ناکارآمد نوتروفیل، نوزادان را مستعد ابتلا به عفونت‌های تهدیدکننده حیات و حساسیت می‌کند که منجر به مرگ و میر بالا می‌شود. کاهش بیان مولکول‌های چسبندگی سطحی و تعداد بیشتری از نوتروفیل‌های نابالغ نیز در نوزادان مشاهده می‌شود.

www.takbook.com



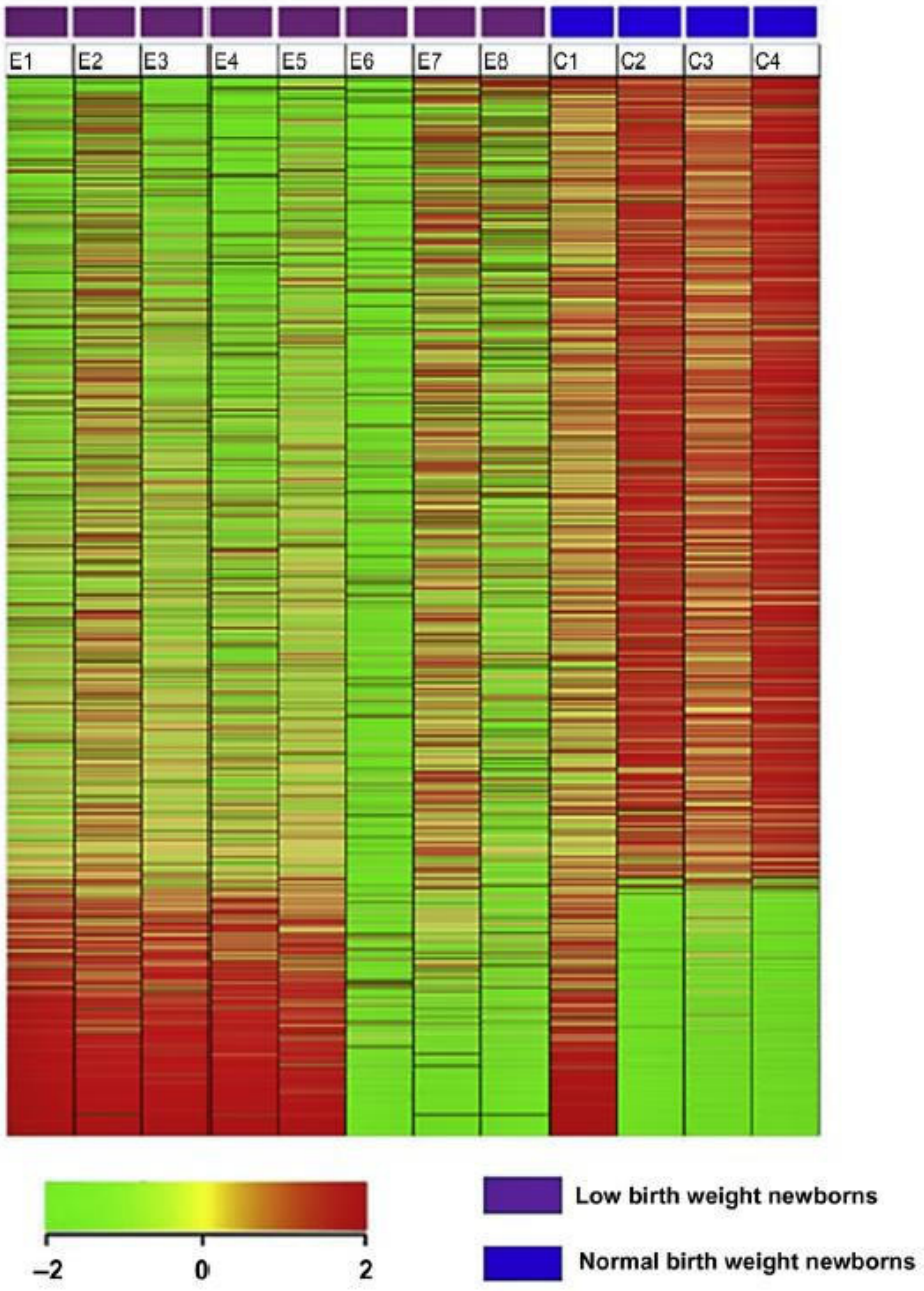
نوزادان انسانی دارای یک سندرم چند عاملی شایع اختلال عملکرد نوتروفیل هستند که به طور کامل مشخص نشده است و به حساسیت و سایر عوارض شدید عفونی کمک می‌کند. مشاهده شده است که نوزادان انسان بسیار مستعد ابتلا به حساسیت و سایر عفونت‌های تهدید کننده زندگی هستند.

بروز و میزان عفونت در نوزادان با وزن کم هنگام تولد (LBW) (کمتر از ۲/۵ کیلوگرم) بیشتر است. singh به همراه همکاران (۲۰۱۳) بیان ژن‌ها را مقایسه کرد و دریافت که بیش از ۱۰۰۰ ژن در نوزادان LBW کاهش یافته است که بیشتر آن‌ها به ویژه با پاسخ ایمنی و عملکرد نوتروفیل مرتبط بودند (شکل ۴-۱).

مجموعه داده‌های کاملی که داده‌های خام و نرمال شده از این مطالعه را گردآوری می‌کند در پایگاه داده Gene Expression omnibus ( شماره دسترسی سری GEO: GSE29807) قرار گرفته است. ناتوانی در عملکرد نوتروفیل ممکن است به عنوان یکی از دلایل احتمالی این اختلال در فعالیت ایمنی در نوزادان باشد.

www.takbook.com






شکل ۴-۱. مشخصات بیانی ژن‌های بیان شده متفاوت در نوزادان کم‌وزن هنگام تولد(LBW). نقشه حرارتی تفاوت در پروفایل‌های بیان ژن در نوزادان LBW را در مقایسه با گروه‌های نوزادان تازه متولد شده با وزن طبیعی(NBW) نشان می‌دهد که در آن ستون‌های E1-E8 با نمونه‌های LBW و C1-C4 مربوط به نمونه‌های NBW هستند.

www.takbook.com



## تخریب و تاخیر نتوزیس در نوزادان تازه متولد شده

نوزادان انسانی دارای مقررات ایمنی متمایز و پیچیده‌ای هستند که با افزایش آسیب‌پذیری نسبت به عفونت و آسیب‌شناسی التهابی مشخص می‌شود. نوزاد در یک محیط محافظت شده و استریل در رحم است، اما می‌تواند قبل یا در حین زایمان با عوامل بیماری‌زا مواجه شود. نوزادان بلافاصله پس از زایمان با باکتری‌ها کلونیزه می‌شوند، فرآیندی که با افزایش نوتروفیل‌های در گردش و مغز استخوان همراه است.

به نظر می‌رسد چنین سازگاری‌هایی برای جلوگیری از التهاب شدید و مضر در دوره پری ناتال و در طی انتقال ناگهانی نوزاد از محیط محافظت‌شده داخل رحمی به قرار گرفتن در معرض میکروبی مداوم تکامل یافته‌اند.

جالب است که این سازگاری ها ممکن است منجر به افزایش حساسیت به عفونت شود. قبلاً گزارش شده بود که ناتوانی PMNهای جدا شده از خون بند ناف نوزادان نارس و ترم در تشکیل NET در هنگام تحریک قبلاً توسط Yost و همکاران (۲۰۰۹) گزارش شده بود.

آنها هم‌چنین نقص در کشتار باکتریایی خود را با واسطه NET ثبت کردند که چنین سازگاری را پیشنهاد می‌کند. آنها گزارش کردند که نوتروفیل‌های نوزادان ترم و نارس وقتی توسط آگونیست‌های مختلف تحریک می‌شوند مانند LPS، PAF و fMLP قادر به تشکیل NET نیستند. آنها هم‌چنین متوجه شده‌اند که این نوزادان علاوه بر تشکیل NET، در کشتن باکتری‌های خارج سلولی کم بازده هستند. تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) نیز در نوزادان تحت تأثیر قرار می‌گیرد که به فعالیت کم بازده نوتروفیل کمک می‌کند.

با این حال، مطالعات بعدی توسط محققین دیگر نشان داد که تشکیل NET به طور موقت در نوزادان زمانی که نوتروفیل‌های آن‌ها در شرایط آزمایشگاهی تحریک می‌شوند، به تاخیر می‌افتد.

LIPP و همکاران (۲۰۱۷) گزارش دادند که نوتروفیل‌های نوزادان ترم در تحریک PMA، NETها را تولید می‌کنند، اما نوزادان نارس ساختار NET به طور قابل‌توجهی پایین‌تر از خود نشان می‌دهند. تشکیل ناکارآمد NET ممکن است یکی از جنبه‌های مهم نقص ایمنی باشد که نوزادان تازه متولد شده را منجر به عفونت می‌کند.

www.takbook.com



## تنظیم تله خارج سلولی نوتروفیل متفاوت در نوزادان وجود دارد

اگرچه گزارش‌های قبلی نشان می‌دهد که تشکیل NET از طریق آنزیم اکسیداز نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات (NADPH) با تولید ROS تنظیم می‌شود، کمبود در تشکیل NET را نمی‌توان در نوزادان نارس و ترم مانند بزرگسالان با اهداکننده ROS (گلوکز اکسیداز) جبران کرد. Byrd و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند که فیبرونکتین (Fn) همراه با هیف‌های کاندیدا آلبیکنس یا Fn همراه با بتا گلوکان قارچی خالص می‌توانند NETهای مستقل از ROS را در نوزادان تشکیل دهند. به نظر می‌رسد نوتروفیل‌ها در نوزادان به تحریک قارچی حساس تر از اجزای باکتریایی هستند. Marcos و همکاران (۲۰۰۹) هم‌چنین نشان دادند که نوتروفیل‌های نوزاد قادر به ایجاد NET بر روی تحریک LPS همراه با تحریک با چندین لیگاند TLR دیگر Pam3CSK4، لیستریا مونوسیتوژنز، FSL-1، LPS، فلاژلین، ssRNA40 یا ODN2006 هستند. از مطالعات بالا مشهود است که نوتروفیل‌های نوزاد با تأخیر، تشکیل NET را نشان می‌دهند، زیرا زمان بیشتری برای تولید حداکثر NET طول می‌کشد. مطالعات نشان داد که نوزادان نارس ظرفیت انتشار NET را تا روز ۳ تولد به دست می‌آورند و بین روزهای ۳ تا ۱۴ زندگی آن‌ها حداکثر سطح تشکیل NET به دست می‌آید. به گونه‌ای جالب توجه، در پستاندارانی مانند خوک، NETها نیز ویژگی‌های مشابهی را نشان می‌دهند. علاوه بر این، تشکیل NET ناچیز در موش‌های ۲۱ روزه در مقایسه با موش‌های ۶۰ روزه مشاهده شد.

## کالپروتکتین با تله خارج سلولی نوتروفیل در نوزادان مرتبط است

کالپروتکتین، یک پروتئین ضد باکتری موجود در نوتروفیل‌ها، با ماکروفاژهای فعال در روده مرتبط است.

وجود کالپروتکتین در مونوسیت‌ها و ماکروفاژها نیز مشاهده می‌شود. ۶۰ درصد از کل پروتئین‌های سیتوزولی را تشکیل می‌دهد. کالپروتکتین با اتصال به کلسیم باعث تثبیت و جلوگیری از تخریب آن می‌شود. مهاجرت نوتروفیل‌های فعال شده از طریق غشای اپیتلیال دستگاه گوارش باعث سطوح بالای کالپروتکتین در مدفوع می‌شود. گزارش شده است که نوزادانی که از انتروکولیت نکروزان (NEC) رنج می‌برند نسبت به نوزادان سالم سطوح بالاتری از کالپروتکتین در مدفوع خود دارند.

www.takbook.com



گزارش‌ها حاکی از آن است که کالپروتکتین یکی از پروتئین‌های اصلی است که توسط نوتروفیل‌های مرتبط با NETها در روده، تحت تاثیر NEC، رها می‌شوند. بنابراین وجود کالپروتکتین مشتق از نوتروفیل تا حدی، در مدفوع نوزادان مبتلا به NEC، به مخاط روده و مجرای روده مهاجرت می‌کند و بیشتر باعث القای کالپروتکتین ضد میکروبی را از نتوزی القا می‌کند.

## مهارکننده‌های فعالیت تله خارج سلولی نوتروفیل در نوزادان

Yost و همکاران (۲۰۱۶) خانواده ای از مهارکننده‌های اندوژن NETها را در نوزادان گزارش کردند که مسئول ایجاد تخریب/تأخیر در تشکیل NET هستند. اولین پپتید شناسایی شده، فاکتور بازدارنده NET نوزادی (nNIF) بود، آن‌ها این خانواده از مهارکننده‌ها را پپتیدهای مرتبط با nNIF (NRPs) نامیدند. NRPها هم‌چنین ساختار مرتبط با سرطان ماتریکس سیتوپلاسمی (SCM)، سرکوب دفاعی ایمنی و پپتید حفاظتی پروتئاز سرین (CRISPP) و قطعه برش انتهایی کربوکسی ۴۴ آمینو اسید A1AT (۱a- آنتی تریپسین)، A1ATm35، A1AT را تشکیل می‌دهند. تفاوت در NETها بین نوزادان نارس و ترم گزارش شده است. دلیل این امر می‌تواند این باشد که مهارکننده‌های شرح داده شده در بالا به سرعت در نوزادان پس از زایمان کاهش می‌یابد. این می‌تواند دلیل احتمالی برای تشکیل NET متفاوت بین نوزادان ترم و نارس باشد. مهارکننده‌ها هم‌چنین در بافت‌ها/مایعات مختلف بدن مانند جفت (A1ATm358)، خون ناف (nNIF) و پلاسما (پپتیدهای مرتبط با CRISPP) شناسایی شدند که به وضوح بر کاربرد آن‌ها در نوزادان تاکید می‌کند.

آنها قادر به جلوگیری از تشکیل NET تحریک شده توسط PMA، الگوی مولکولی مرتبط با آسیب (هِم)، و باکتری‌های زنده (استافیلوکوکوس اورئوس) هستند، با این حال، قادر به خنثی کردن آن‌ها نیستند. یک پدیده جذاب مرتبط با NRPها این است که تولید ROS را تغییر نمی‌دهند. جالب توجه است، NRPها نه بر تولید ROS و نه بر فعالیت NE تأثیر می‌گذارند. با این حال، آن‌ها قادر به محدود کردن سیترولیناسیون هیستون با واسطه PAD4 هستند. علاوه بر این، تزریق nNIF یا CRISPP به موش‌های بالغ آلوده به اشریشیا کلی یا LPS از تشکیل NETs جلوگیری کرد و کشتن باکتری‌ها را کاهش داد.

www.takbook.com



جالب توجه است، مشاهده شده است که برخلاف نوزادان، nNIF در بزرگسالان سالم تقریباً به مقدار ناچیز و در سطوح غیر قابل ردیابی در پلاسمای بزرگسالان مبتلا به اختلالات التهابی مزمن وجود دارد. دلیل احتمالی سطوح پایین‌تر nNIF در بزرگسالان می‌تواند تولید محرک‌های NET در مرز جنین مادر باشد و برای جلوگیری از تشکیل بیش از حد تله‌هایی که می‌توانند باعث آسیب‌شناسی التهابی در رابط بین جنین و مادر شوند، ممکن است nNIF مورد نیاز باشد، در حالی که در بزرگسالان این موارد نامربوط است. با این حال، پس از تولد، چگونگی تخریب یا خنثی شدن مهارکننده‌ها هنوز مشخص نیست.

## مسیر مستقل از گونه‌های اکسیژن فعال در نوزادان

تولید ROS بخشی جدایی ناپذیر از تشکیل NET است. با این حال، در پاسخ به β-گلوکان قارچی، نوتروفیل‌های نوزادی NET را به روشی مستقل از ROS آزاد می‌کنند. بتا گلوکان خالص شده و هیف‌های C.albicans در زمینه فیبرونکتین قادر به تولید NET هستند. بتا گلوکان جدا شده از دیواره سلولی قارچ و تخلیص شده قادرند تاثیر هیف‌های سالم را بر فعال شدن نوتروفیل‌ها تقلید کنند که اثربخشی این جزء دیواره سلولی را در پاسخ ایمنی ذاتی به اثبات می‌رساند. هیف‌های بزرگ C.albicans خیلی سخت هستند و نمی‌توانند توسط فاگوسیتوز بلعیده شوند. بنابراین، برای مبارزه با عفونت‌های قارچی، نوتروفیل‌ها از طریق مکانیسمی عمل می‌کنند که شامل درونی نمی‌شود. در این زمینه، در غیاب فاگوسیتوز، بی‌حرکتی β-گلوکان به عنوان یک مدل کاهنده پذیرش نوتروفیل به این PAMP قارچی کلیدی عمل می‌کند. در بزرگسالان، β2 اینتگرین CR3 موجود در سطح نوتروفیل برای آزادسازی و تجمع NET ضروری بود.

به گفته Yost و همکاران. (۲۰۰۹)، نوتروفیل‌های نوزادان نارس و سالم در تشکیل مقدار کافی NET در هنگام قرارگیری در معرض آگونیست‌های التهابی مانند PMA، PAF و LPS، دچار اختلال می‌شوند. برد و همکاران (۲۰۱۶) پیشنهاد کرد که PMNهای نوزادی حداقل NETها را برای آگونیست‌های التهابی تشکیل می‌دهند که نتایج توسط Yost و همکاران را تایید می‌کند. آن‌ها تجمع قوی و نتوزیس PMNهای نوزادی را در پاسخ به Fn با β-گلوکان نشان داده‌اند. گزارش شده است که کشتن C.albicans NET توسط نوتروفیل‌های بالغ مستقل از ROS بود و تایید کرد که نوتروفیل‌ها فعالیت قارچ کشی خود را در هنگام آلوده

www.takbook.com



شدن به Fn فاقد حرکت با β-گلوکان حفظ می‌کنند. گزارش حاکی از آن است که در نوزادان انفجار اکسیداتیو و انتشار NET پدیده‌های ناهمسو در طول پاسخ به بتا گلوکان PAMP قارچی یا هیف سالم C.albicans هستند.

## تنظیم متفاوت اجزای تله‌های خارج سلولی نوتروفیل در نوزادان

تشکیل NET در نوتروفیل‌های بند ناف مختل شده است. Zhu و همکاران (۲۰۱۴)، ۲۴ پروتئین درگیر در NETها را گزارش کردند. جالب توجه است که برخی از این پروتئین‌ها در سطوح مختلف در نوتروفیل‌های بند ناف و بالغ بیان شدند. فقط یک پروتئین افزایش بیان داشت و شش پروتئین در نوتروفیل‌های بند ناف تنظیم کاهشی داشتند. هفده پروتئینی که در سطوح مشابه بیان می‌شوند، عمدتاً اجزای NET بودند و شامل هیستون‌ها و پروتئین‌های گرانولی، پروتئین‌های سیتوزولی و اسکلت سلولی، کاتالاز و آنزیم‌های گلیکولیتیک بودند. این پروتئین‌های بیان شده مشابه برای عملکرد بیولوژیکی با استفاده از ابزار STRING مشخص شدند و مشخص شد که چندین گروه عملکردی را تنظیم می‌کنند که برخی از آن‌ها گروه پروتئین مرتبط با آپوپتوز هستند، از جمله کاتالاز، آلفااکتینین-۱، پروتئین اتصالی به کلسیم S100 A9 (S1009A) و آنتی ژن تمایز هسته‌ای سلول‌های میلوئید؛ گروه‌های اسکلت سلولی متشکل از میوزین-۹ (MYH9)، پلاستین-۲ (LCP1)، آلفا اکتینین-۱ و S1009A. شش پروتئین، کاتپسین G، BPI، S1008A، S1009A، S10012A، و لاکتوفروکسین-C در عملکرد پاسخ به باکتری نقش داشتند. گزارش شده است که شش پروتئین در نوتروفیل‌های بند ناف بیان نشده است. پروتئین‌هایی که در نوتروفیل‌های مشتق از خون بند ناف نوزادان کمتر بیان می‌شوند شامل سه جزء اصلی گرانول آزوروفیلی هستند، لیزوزوم‌های تخصصی برای کشتن میکروارگانیسم‌ها در نوتروفیل‌ها، NE که به عنوان ELANE شناخته می‌شود که به طور خاص در نوتروفیل‌ها بیان می‌شود. نقش کلیدی در نتوزیس ایفا می‌کند و مانع از فعالیت آن می‌شود که تشکیل NET را حذف می‌کند، MPO، اسیدهای هیپوهالوس مرکزی برای فعالیت میکروب‌کشی نوتروفیل‌ها تولید می‌کند و هم‌چنین ELANE را برای ترویج تراکم‌زدایی هسته‌ای و نتوزیس تحریک می‌کند و سومی یک آزوروسیدین (AZU1)، دارای فعالیت آنتی بیوتیکی است و هم‌چنین به عنوان یک واسطه التهابی چند منظوره یا یک جاذب شیمیایی قوی برای مونوسیت‌ها، لنفوسیت‌ها و تا حدی نوتروفیل‌ها عمل می‌کند.

www.takbook.com



کاهش این اجزای اصلی گرانول آزوروفیلی در نوتروفیل‌های بند ناف منجر به اختلال نتوزیس در نوتروفیل‌های نابالغ می‌شود. متالوپروتئازهای ماتریکس (MMPs) یا اندوپپتیدازها، پروتئازهای کلیدی درگیر در تخریب ماتریکس خارج سلولی هستند. علاوه بر این، MMPها نقش مهمی در مهاجرت نوتروفیل دارند.

MMP9 در گرانول‌های مخصوص نوتروفیل ذخیره می‌شود و پس از فعال شدن سلولی به شدت آزاد می‌شود و در بازسازی ماتریکس خارج سلولی و مهاجرت سلولی در طول التهاب حاد نقش دارد. کاهش قابل توجه آن در نوتروفیل‌های بند ناف به وضوح نقش مهم آن را نه تنها در نتوزیس، بلکه در انتقال مختل شده در شرایط استرس نشان می‌دهد.

www.takbook.com

www.takbook.com

# فصل پنجم:

## نتوزیس در خود ایمنی

خود ایمنی به عنوان یک پاسخ ایمنی ناشی از حملات سیستم ایمنی خودِ میزبان، به بافت خود، به دلیل از دست دادن توانایی تحمل به خود بدن تعریف می‌شود. خود واکنش‌پذیری می‌تواند از طریق فعال‌سازی گیرنده‌های ایمنی به طور مستقیم توسط اتو آنتی‌ژن و یا به دلیل واکنش متقابل بین محیط خارج و خود آنتی‌ژن‌ها ایجاد شود. بیماری خود ایمنی یک وضعیت بالینی است که از این اختلال در سیستم ایمنی ناشی می‌شود که در غیر این صورت برای محافظت از شما در برابر بیماری و عفونت به کار می‌رود. خود ایمنی می‌تواند با تشدید و گسترش آسیب‌شناسی به یک بیماری در حال پیشرفت کمک کند. یکی از مکانیزم‌های پیشنهادی برای اتوایمیونیتی (خود ایمنی بودن) از طریق اصلاحات پس از ترجمه است که تولید آنتی‌ژن‌های نئو (اتو) را ارتقا می‌دهد و یک پاسخ خود ایمنی ایجاد می‌کند.

همان‌طور که در فصل‌های قبلی بحث شد، نتوزیس یک مکانیزم ضد میکروبی جدید است که توسط نوتروفیل‌ها برای ایجاد حفاظت در برابر میزبان به کار گرفته می‌شود اما تشکیل تله (Trap) خارج سلولی نوتروفیل نامنظم هم‌چنین می‌تواند با تولید اتوآنتی‌بادی‌ها در برابر

www.takbook.com



اجزای NET مختلف، خود ایمنی را تحریک کند. NETها منبع اصلی آنتی‌ژن‌های خودی در بیماری‌های خود ایمنی هستند. مشاهده شده‌است که اتوآنتی‌بادی‌ها از بیماران مبتلا به خود ایمنی، پروتئین‌های دفاعی ایمنی ذاتی را هدف قرار می‌دهند، از جمله عوامل اصلی NET مانند الاستاز، کاتپسین G و پروتئیناز ۳ و هم‌چنین پپتیدهای باکتریسیدال ذخیره‌شده در گرانول‌ها و کوکوراسیون با NETها مانند نقص نوتروفیل و پپتید LL37. آنتی‌ژن‌های خودکار دمیلینه شده، آنتی‌ژن‌های خودکار اولیه تولید شده از NETها و نوتروفیل‌ها از یک بیماری خود ایمنی مانند آرتریت روماتوئید (RA) هستند که نسبت به نوتروفیل‌های آرتروز، بیشتر مستعد نتوزیس هستند. هم‌چنین NETها منجر به تحریک پاسخ‌های التهابی، از جمله افزایش بیان مولکول‌های چسبندگی، سایتوکاین‌ها و کموکاین‌ها می‌شوند. گزارش‌ها حاکی از افزایش فراوانی نوتروفیل‌های فعال شده و غلظت افزایش‌یافته اجزای گرانول‌های نوتروفیل در سرم بیماران با بیماری پیشرونده است. گزارش شده‌است که عوارض لوپوس ارتباط مثبتی با تیتر اتوآنتی‌بادی‌های ضد NET دارد. اتوآنتی‌بادی‌ها علاوه بر هیستون‌ها و DNA و داربست ساختاری NETها، به پروتئین‌های مرتبط با NET در لوپوس متصل می‌شوند. مطالعات اخیر، وجود اتوآنتی بادی ضد پپتیدیل آرژنین دیمیناز PAD4 را با فعال شدن آنزیمی دیمیناز نشان می‌دهد. در محیط خارج سلولی، فعالسازی PAD4 موجب تحریک سیترولیشن‌های فیبرونکتین، فیبرینوژن، کلاژن و دیگر پروتئین‌های ماتریکس می‌شود که با تظاهرات بافت پیوندی مرتبط شده‌اند. اولاً، در مدل ورم مفاصل ناشی از کلاژن، مهار PAD4 توسط Cl - آمیدین علائم قابل‌سنجش بیماری را در مدل‌های ورم مفاصل بهبود بخشید.

علاوه بر این، Cl - آمیدین هم‌چنین میلوپراکسیداز (MPO) و رسوب کمپلکس ایمنی را در کلیه‌ها موش‌های NZM کاهش می‌دهد و تمایز سلول‌های اندوتلیال و گشاد شدگی عروق را بهبود می‌بخشد و خطر ترومبوز شریانی را کاهش می‌دهد. مهار فعالیت دیمیناز PADs علائم نورودژنراتیو را در یک مدل موشی از مولتیپل اسکلروزیس (MS) بهبود می‌بخشد. در شرایط سپسیس، تعامل پلاکت‌ها با نوتروفیل‌ها باعث فعال شدن مسیرهای گیرنده‌های Toll مانند (TLR) می‌شود که منجر به تشکیل سریع NETها می‌شود. هم‌چنین NETها در ریه‌ها و پلاسمای آسیب حاد ریه ناشی از انتقال خون (TRALI) و نیز در آلوئول‌های موش با واسطه آنتی بادی TRALI شناسایی می‌شوند. یکی از مطالعات به این نتیجه رسید که NETها مسئول اختلال در سلول‌های اندوتلیال و نشت در مویرگ‌های ریه هستند. جالب

www.takbook.com



توجه است که مشاهده شده‌است که استفاده از آنتی‌بادی علیه هیستون‌ها و DNase I موش‌ها را در برابر TRALI محافظت می‌کند و درمان با آنتی هیستون H4، میزان مرگ و میر در مدل سپسیس موش را کاهش می‌دهد. نتوزیس منجر به تجمع پاسخ خود ایمنی شروع‌کننده آنتی‌ژن‌های خودی در گردش خون می‌شود. اغلب مشاهده شده‌است که آنتی‌بادی‌های ضد هسته علیه مارکرهای NETosis MPO و PR3 در مدل‌های آزمایشگاهی و حیوانی بیماری‌های خود ایمنی مزمن وجود دارند. علاوه بر این، سطح NETهای در گردش نیز در بیماران خود ایمنی فعال افزایش یافت. این یافته‌ها به وضوح نشان می‌دهد که نتوزیس منبع اتوآنتی بادی عظیمی را ایجاد می‌کند که باعث تحریک پاسخ خود ایمنی می‌شود و هم‌چنین نقش حیاتی در پیشرفت بیماری‌های خود ایمنی مانند RA، لوپوس اریتماتوز سیستمیک (SLE) و MS ایفا می‌کند.

## نتوزیس در آرتریت روماتوئید

آرتریت روماتوئید یک بیماری خود ایمنی مزمن سیستمیک است که اغلب زنان را نسبت به مردان تحت‌تاثیر قرار می‌دهد و به طور غالب در افراد مسن دیده می‌شود. RA به طور عمده بر پوشش مفاصل سینوویال که منجر به ناتوانی تدریجی، مرگ زودرس و نگرانی‌های اجتماعی - اقتصادی می‌شود، تاثیر می‌گذارد. مفهوم بالینی درگیری متقارن مفصل شامل درد مفاصل، تورم، قرمزی و حتی محدود کردن دامنه حرکتی است.

## پاتوژنز آرتریت ریوماتوئید

با توجه به حضور یا عدم حضور آنتی‌بادی‌های ضد پروتئین (ACPAs)، دو نوع عمده از RA گزارش شده‌است.

Citrullination توسط آنزیم وابسته به کلسیم PAD انجام می‌شود. در طول اصلاح بعد از ترجمه، آرژینین با بار مثبت به سیترولاین PAD قطبی تغییر می‌کند که ACPAs را کاتالیز می‌کند، یعنی همان فراوان‌ترین آنتی‌ژن‌های خودی در بیمار RA که می‌تواند تقریبا در ۶۷ ٪ از بیماران RA تشخیص داده شود. این می‌تواند به عنوان یک مارکر تشخیصی مفید برای بیماران مبتلا به آرتریت تمایز نیافته اولیه عمل کند که نشانه‌ای از پیشرفت بیماری به RA را ارائه می‌دهد. گزارش شده‌است که ACPA منفی RA الگوهای ارتباط ژنتیکی متمایز و

www.takbook.com



واکنش‌های متفاوت سلول‌های ایمنی به آنتی‌ژن‌های سازنده نسبت به زیرمجموعه مثبت ACPA دارد.

اتیولوژی و آسیب‌شناسی RA می‌تواند به مراحل مختلفی تقسیم شود: (۱) تحریک، (۲) بلوغ، (۳) هدف قرار دادن، و (۴) مرحله فولمیننت، همراه با سینوویوم هیپرپلاستیک، آسیب غضروف، فرسایش استخوان و عواقب سیستمیک.

ظهور ACPA در حال حاضر به طور گسترده برای تشخیص و پیش‌بینی RA به دلیل ویژگی بالای آن (بیشتر از ۹۷ ٪) در تمرینات بالینی استفاده می‌شود. علت اصلی تولید ACPA در گردش (سیرکولیشن)، پاسخ آنتی‌بادی سرگردان (Aberrant antibody) علیه پروتئین‌های سیترولینه، شامل ویمنتین، کلاژن نوع II فیبرین، فیبرونکتین، آنتیژن هسته‌ای اپستین - بار ۱ (EBNA - 1)، انولاز، همراه با هیستون‌ها، ACPA می‌تواند توسط عوامل ژنتیکی و محیطی تولید شود. HLA -Dr، با دقت بیشتر از HLA – Dr1 و HLA – Dr4، که به عنوان "اپی توپ‌های مشترک" (SE ها) نیز شناخته می‌شوند، عوامل خطر ژنتیکی اولیه یافت‌شده در بیماران RA مثبت ACPA هستند. نه تنها مفاصل، در معرض قرار گرفتن ریه در معرض عوامل مضر، از جمله گرد و غبار سیلیکا، سیلیکا با اندازه نانو، دود، یا مواد نانو، قادر به القای TLRهای مخاطی هستند که PADs واسطه $Ca^{2+}$ را فعال می‌کنند، بلکه هم‌چنین سلول‌های عرضه آنتی‌ژن (APCs)، مانند سلول‌های دندریت کلاسیک (DCs) و سلول‌های B را نیز فعال می‌کنند. بنابراین مفاصل ممکن است تنها مکان محرک برای خود ایمنی در RA نباشند. گزارش شده‌است که برخی از پاتوژن‌ها مانند عفونت پورفیروموناس ژنژیوالیس منجر به تولید آنتی‌ژن‌ها و ACPA به دو روش می‌شود، یکی با شکافتن پروتئین‌های سیترولینه در ریشه‌های آرژینین و تولید آنتی‌ژن‌ها و دیگری با تحریک تشکیل NET. بنابراین القا نتوزیس توسط ACPAs رخ می‌دهد و به نوبه خود به تولید ACPAs کمک می‌کند.

## نتوزیس به عنوان منبعی از آنتی‌ژن‌های خودی در آرتریت روماتوئید

محرک‌های التهابی مختلف دمیلیناسیون هیستون، نامتراکم شدن کروماتین، و تشکیل NET در نوتروفیل‌ها و هم‌چنین در ائوزینوفیل‌ها و در ماست سل‌ها را القا می‌کنند. ساختار تار مانند تولید شده برای به دام انداختن و کشتن شامل DNA، پروتئین‌های دانه‌ای کاتیونی، و پپتیدها و هیستون‌های ضد میکروبی است.

www.takbook.com



این پروتئین‌های هیستونی دمیلینه می‌شوند و آرگینین‌ها در سیترولین تبدیل می‌شوند. اگرچه دی آمیناسیون یک فرآیند نرمال است، اما اثر زیان آوری را در مورد شرایط RA نشان می‌دهد. این به این دلیل است که پروتئین سیترولینه شده در بافت‌های بیماران RA رسوب می‌کند و به عنوان اتوآنتی‌ژن برای تحریک تولید اتوآنتی‌بادی‌ها علیه آن‌ها عمل می‌کند. این در واقع پاسخ ایمنی میزبان را به شیوه‌ای خود تخریبی تحریک می‌کند. اگر چه فرآیند فیزیولوژیکی دمیلیناسیون در شرایط التهابی تقویت می‌شود اما تنها در افراد دارای استعداد ژنتیکی برای RA و ایجاد آنتی‌بادی برای پروتئین‌های دمیلینه شده توسعه می‌یابد. این آنتی‌بادی‌ها، که به عنوان ACPA شناخته می‌شوند، می‌توانند با پروتئین‌های دیمینه مختلف به دلیل هم‌پوشانی ویژگی‌های خاص، تعامل داشته باشند. مشاهده شده‌است که ACPA فراوان‌ترین آنتی‌بادی در RA است و با توجه به ویژه بودن (Specificity) و ویژگی بالای آن، آن‌ها به عنوان ابزار تشخیصی برای شناسایی RA استفاده می‌شوند. تنوع ژنتیکی عظیم در ACPA به دلیل جهش سوماتیک در حوزه‌های Ig متغیر آن‌ها است، که نشان می‌دهد که این یک پاسخ آنتی‌ژن محور است. در ابتدا پاسخ‌های خود ایمنی به پروتئین‌های سیترولینه مهار می‌شوند، اما با پیشرفت بیماری، پاسخ خود ایمنی برجسته می‌شود و منجر به افزایش بیماری می‌شود. اهداف ACPA شامل آنتی‌ژن‌های خودی (ویمنتین، فیبرینوژن، فیلگنیگ، کلاژن II و هیستون‌ها) و هم‌چنین آنتی‌ژن‌های خارجی (یعنی پروتئین‌های آلفا - انولاز، EBNA - 1 و EBNA - 2) است.

رمزگذاری یا دمیلیناسیون، که در RA دیده می‌شود، توسط آنزیم وابسته به کلسیم PAD کاتالیز می‌شود که این پروتئین‌ها را مستعد ACPA می‌کند. PADs می‌تواند توسط هجوم $Ca^{2+}$ از شکل غیر فعال خود به عنوان نتیجه‌ای از محرک‌های مختلف به احتمال زیاد اپوپتوزی ناشی از یونوفور ماکروفاژها که جریان کلسیم خارج سلولی را تولید می‌کنند یا تحریک لیپوپلی‌ساکارید نوتروفیل که منجر به تحرک کلسیم داخل سلولی می‌شود، فعال شود. به خوبی ریشه یابی شده که فعال‌سازی PAD توسط تولید جریان کلسیم در نوتروفیل‌ها، یک مسیر مستقل از اپوپتوز است و بدون فعال‌سازی Caspase رخ می‌دهد. PADs می‌تواند از سلول ترشح شود و در نتیجه غلظت خارج سلولی $Ca^{2+}$ فعال شود. هوا دهی یک فرآیند فیزیولوژیکی طبیعی است که هومئوستاز چندین اندام را حفظ می‌کند اما به طور ناگهانی در طول التهاب تقویت می‌شود. در RA، پروتئین‌های متعدد سیترولینه

www.takbook.com



می‌شوند، به ویژه در اندام‌های هدف بیماری، عمدتا سینوویوم، هم‌چنین در ریه‌ها و در بافت قلب. در ابتدا پیشنهاد شده‌است که فیبرین بیش‌ترین پروتئین سیترولینه شده در مفاصل RA است، اما اکنون حضور سیترولینه شده ویمنتین و اگرکان نیز تشخیص داده می‌شود. سیترولیشن نقش پاتوفیزیولوژیکی در دیگر اختلالات التهابی غیر از RA مانند بافت عضلانی اسکلتی ملتهب در میوزیت و سینوویوم بیماران اسپوندیلوآرتریت ایفا می‌کند. تعداد زیادی از محرک‌های نوتروفیل (سایتوکاین‌ها، لیگاندهای TLR و غیره) می‌توانند منجر به تولید هیستون‌های دمینیت شده شوند.

مسیرهای غشایی پرفورین و کمپلمنت، تشکیل منافذ در غشاهای نوتروفیل را ممکن می‌سازند که غلظت کلسیم داخل سلولی را تسریع می‌کند و فعالیت آنزیم‌های PAD را ترجیح می‌دهد. بنابراین فعال‌سازی کامل و سوراخ کردن با تشکیل کمپلمنت حمله غشایی نقش مهمی در القای سیترولیشن فراوان پروتئین در نوتروفیل‌های مایع سینویال ایفا می‌کند.

سهم قابل‌توجهی از این پروتئین‌های سیترولینه شده ناشی از توانایی نوتروفیل‌های RA از خون پریفرال یا مایع سینویال برای تشکیل NETs است. این فرآیند می‌تواند توسط محرک‌ها تحریک شود و یا خود به خود اتفاق بیفتد. سطوح بالاتر حوضچه‌های اسید فسفریک دمینه شده در بیماران RA در مقایسه با کنترل نشان‌دهنده نتوزیس خود به خودی بالاتر در نوتروفیل‌های در گردش آن‌ها بود. علاوه بر این، قرار گرفتن در معرض ایمونوگلبولین‌های RA یا ACPA خالص باعث تحریک تشکیل NET می‌شود و نوتروفیل‌ها در بافت سینوویال و گره‌های روماتیسمی از بیماران RA تشخیص داده می‌شوند. در مایع مفصلی، نوتروفیل‌ها PAD2 و PAD4 فعال آنزیمی را در مفاصل ملتهب ترشح می‌کنند که ممکن است پروتئین‌های خارج سلولی را تحت شرایط محلی سیترولینات کنند. حضور هر دو نوع PAD محلول و مرتبط با NET نشان می‌دهد که NET به عنوان یک داربست مولکولی برای مطالعه سیترولیشن پروتئین عمل می‌کند. مطالعات اخیر مکانیسم‌های در ان سوی مقررات NET توسط PAD4 را توصیف کرده‌اند. علاوه بر ACPA، سطح بالایی از MPO در بیماران RA یافت می‌شود. مطالعات بر روی مدل موشی نشان می‌دهد که NADP اکسیداز، یکی از میانجی اصلی نتوزیس، نقش بالقوه‌ای در پاتوژنز RA دارد.

www.takbook.com



در RA، یک پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP) در موقعیت 1858 (C1858T) در DNA کد کننده یک پروتئین تیروزین فسفاتاز (PTPN22)، که منجر به تبدیل یک آرژینین (620 R) به یک تریپتوفان (W620) می‌شود، شناسایی شده‌است. برخی از SNPها ارتباط با پیشرفت بیماری با RA را نشان داده‌اند، اگرچه این SNPs نیز در دیگر بیماری‌های خود ایمنی SLE، دیابت نوع ۱ تشخیص داده می‌شوند. در بیماران RA، نت‌ها قادر به فعال کردن سینوویسیت‌ها، افزایش تولید سایتوکاین‌های پیش‌برنده التهاب و تقویت التهاب مفصلی هستند. بنابراین نوتروفیل‌ها نقش فعالی را در فرآیند التهابی RA بازی می‌کنند که به عنوان منبع و آنتی ژن‌های خود تغییر یافته پس از ترجمه عمل می‌کنند.

## هیستون‌های سیترولینه در نوتروفیل‌های آرتریت روماتوئید

هسته نوکلئوزوم، شامل یک H3-H4 تترامر و دو H2A/H2B، یک ساختار بسته‌بندی استاتیک DNA نیست، بلکه برعکس، یک کمپلکس دینامیک است، و مدولاسیون ساختار آن یک جز مهم از تنظیم رونویسی است. تغییرات در ترکیب هیستون‌ها، که در سلول‌های یوکاریوتی، از مخمر گرفته تا انسان، به شدت حفظ شده‌اند، به طور گسترده در تعدیل دینامیک ساختار و عملکرد کروماتین مورد استفاده قرار می‌گیرند.

بیست نوع تغییرات پس از ترجمه هیستون توضیح داده شده‌است، که قادر به تعدیل عملکرد کروماتین با تغییر بار آمینو اسید و در نتیجه فعل و انفعالات بین نوکلئوزومی و یا با فعال‌سازی / ممانعت از فعل و انفعالات با پروتئین‌های متصل شونده خاص خارج از نوکلئوزوم‌ها هستند اما با این حال برای تنظیم DNA ضروری هستند. در میان همه این‌ها، یکی از آخرین مواردی که توضیح داده شد، رد شدن آرژینین است. اولین توصیف از دمیلیناسیون هیستون توسط هاگیوارا، هیداکا و یامادا (۲۰۰۵) گزارش شد. آن‌ها مشاهده کردند که وقتی گرانولوسیت‌های مشتق از HL60 و گرانولوسیت‌های خون پریفرال با A23187 (یک حامل یون متحرک شناخته‌شده به عنوان یونوفور کلسیم) تحریک می‌شوند، PAD سیتوپلاسمی آن‌ها H2A هیستون، H3 و H4 (غیر از نوکلئوفسمین / B23) را تغییر می‌دهد. کاتبرت و همکاران (۲۰۰۴) و وانگ و همکاران (۲۰۰۴) گزارش دادند که PAD4 (PAD V توصیف‌شده توسط یامادا) H3 هیستون و H4 را تغییر می‌دهد و با تنظیم دقیق ساختار کروماتین بر رونویسی ژن تاثیر می‌گذارد. به طور خاص، کاتبرت و همکاران (۲۰۰۴)

www.takbook.com



نشان دادند که PAD زمانی فعال می‌شود که توسط گیرنده استروژن به طور درون سلولی متصل می‌شود. PAD هیستون H3 و H4 را در آرژینین مختلف که ترجیحا در دم N - ترمینال قرار دارد تغییر می‌دهد و میل ترکیبی گیرنده استروژن را برای ژن‌های هدف آن افزایش می‌دهد، در نتیجه منجر به کاهش بیان ژن تحت کنترل استروژن و هورمون‌های تیروئیدی می‌شود. هنگامی که فعالیت PAD4 توسط Cl - آمیدین مهار می‌شود، افزایش در بیان ژن‌های مرتبط با p53- و نیز خود p53-، همان‌طور که توسط Wang et al. (۲۰۰۴) توضیح داده شد، مشاهده می‌شود. PAD4 تنها ایزوفرم PAD دخیل در تنظیم کروماتین نیست. در واقع، Zhang و همکاران (۲۰۱۲) پیشنهاد کردند که تحریک سلول‌های ER مثبت با ۱۷ - استرادیول (E2)، سیترولیشن کلی هیستون H3 آرژینین ۲۶ (H3R26) بر روی کروماتین را افزایش می‌دهد که با PAD2 کاتالیز می‌شود نه با PAD4، که در عوض H4R3 را تغییر می‌دهد. مهم‌تر این‌که، دمیلیناسیون ممکن است شامل آرژینین و هم‌چنین متیل آرژینین در H4 و H3 القا شده به ترتیب توسط PRMT1 و CARM1 باشد، بنابراین PAD4 را به عنوان یک آنزیم دی متیل کننده بیان می‌کند، در نتیجه اصلاح اپی ژنتیک متیلاسیون آرژینین را معکوس می‌کند. همانند هیستون‌های هسته‌ای، هیستون‌های رابط خارج هسته‌ای نیز می‌توانند هدف فعالیت PAD باشند. کریستوهورو و همکاران (۲۰۱۴) اخیرا نشان داده‌اند که H1 نیز می‌تواند سیترولینه شود. Dwivedi و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که H1 یک زیرلایه اضافی برای PAD4 است، با ارائه شواهدی مبنی بر این‌که در طول نتوزیس، انواع مختلفی از لینکر H1 را می‌توان بر روی آرگین‌های متعدد جدا کرد.

به صورت قابل توجهی H1.2 روی آرژنین ۵۳ دمینه می‌شود و بنابراین اپی توپ نئو تشکیل شده توسط آنتی‌بادی‌های آنتی سیترولین خاص موجود در درصد کمی از بیماران مبتلا به SLE و سندرم شوگرن (SS) شناسایی می‌شود، به عنوان مثال، آنتی بادی تشخیص دهنده در RA تشخیص داده نمی‌شود. سیترولین پس از اصلاح شیمیایی با آنتی‌پیرین و ۲،۳- بوتاندیون، به اصطلاح معرف Senshuo، پروتئین‌های کاربامیله را نیز تشخیص می‌دهد.

www.takbook.com



## هیستون‌های سیترولینه به عنوان آنتی‌ژن در آرتریت روماتوئید

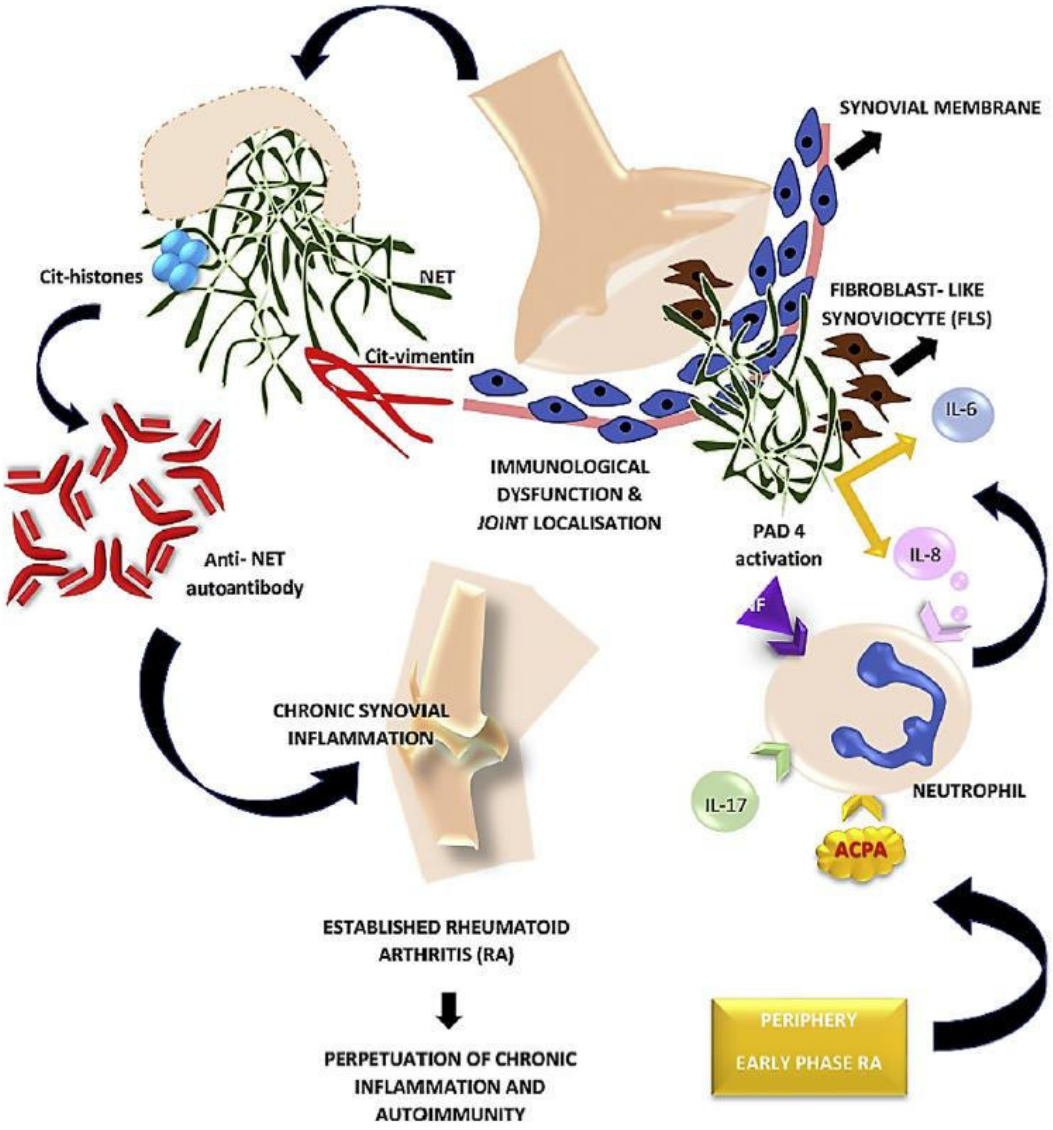
همان‌طور که قبلاً بحث شد، هیستون‌های هسته‌ای فراوان‌ترین پروتئین‌ها در NET هستند. حضور آنتی‌بادی‌های آنتی دیمینه شده هیستون H3 در سرم بیماران RA شناسایی شده‌است (شکل ۵-۱).

اتوآنتی‌بادی‌های اختصاصی برای پپتیدهای سیترولینه شده H414_34 __HCP1 و H431_50 __HCP2 به ترتیب در ۶۷ ٪ و ۶۳ ٪ از RA ایجاد شده وجود دارند. فراوانی در RA اولیه کم‌تر است (به ترتیب ۳۷,۳ ٪ و ۴۸,۵ ٪)، اما آن‌ها می‌توانند سال‌ها قبل از شروع بیماری تشخیص داده شوند.

براساس یکی از زیر مجموعه‌های اصلی ACPA، آنتی‌بادی‌های ضد بمب‌گذاری هیستونی، علائم اصلی RA را ایجاد می‌کنند و به پیش‌بینی پیشرفت بیماری کمک می‌کنند.

www.takbook.com






**شکل ۵-۱. نقش NETosis در پیشرفت RA. سیرکولیشن نقش مهمی در RA ایفا می‌کند. Neutrophils را می‌توان با تعداد زیادی محرک (سایتوکاین‌ها، لیگاندهای TLR و غیره) برای تشکیل NET فعال کرد. Neutrophils در سراسر محیط جابه جا می‌شوند و به دنبال آن NETosis اضافی منجر به تولید آنتی‌ژن‌های دمینرالیزه، برای مثال، citH2A، citH2B، و citH4 هیستون می‌شود. این آنتی‌ژن‌های سیترولینه شده می‌توانند توسط APCs پس از خوردن اجزای هسته‌ای نوتروفیل‌ها ارائه شوند. این امر منجر به ارائه مداوم آنتی‌ژن‌های سیترولینه شده و منجر به پاسخ‌های خود ایمنی مبتنی بر آنتی‌ژن در مفصل RA می‌شود که منجر به تولید اتوآنتی بادی ضد NET می‌شود که به طولانی شدن التهاب مزمن و خود ایمنی کمک می‌کند.**

به طور شگفت‌آوری، آنتی‌بادی‌های علیه توالی‌های سیترولینه شده H2A و H2B در افراد سالم شناسایی شده‌اند که بعداً RA را توسعه می‌دهند. یک افزایش در فرکانس آنتی‌بادی،

www.takbook.com



همراه با تولید سایتوکاین‌های التهابی، پیشرفت RA فعال بالینی را پیش‌بینی می‌کند. علاوه بر این، H2B سیترولینه به عنوان هدف اتوآنتی‌بادی‌ها در تعداد زیادی از بیماران با RA شناسایی شده‌است. مشاهده شده‌است که سیال‌های سینوویال RA حاوی سطوح بالایی از citH2B و کمپلکس ایمنی آن هستند، که ظرفیت پیش التهابی و تحریک ایمنی دارند. گزارش‌ها هم‌چنین پیشنهاد می‌کنند که ایمن‌سازی با آنتی‌ژن‌های سیترولینه مانند کلاژن II می‌تواند آسیب بافت را افزایش دهد و تولید ACPA را در آرتریت تجربی تحریک کند و استفاده از فیبرینوژن ضد باکتری در آرتریت ناشی از کلاژن، آسیب بافت را افزایش می‌دهد.

## ساختارهای لنفوئیدی سلول‌های اپی تلیال به عنوان منبع آنتی‌بادی‌های ضد تله خارج سلولی نوتروفیل‌ها در آرتریت روماتوئید

ساختارهای لنفوئیدی اکتاپیک (ELS) به دلیل نفوذ خوشه سلول‌های غیر هسته لنفاوی در سینویوم مایعات مفاصل RA شکل می‌گیرند. ELS سینوویال قادر به حمایت از واکنش مرکز جوانه زنی (GC) است. ELS با تجزیه لنفوسیت‌های T و B، تمایز ونول‌های اندوتلیال بالا، و کمپلکس سلول‌های دندریتیک فولیکولی استرومال مشخص می‌شود. در بیماران RA، این GC نابجا تولید آنتی‌بادی بر علیه پروتئین‌های سیترولینه، برخلاف دیگر بیماری‌های خود ایمنی را تحریک می‌کند، در حالی که اتوآنتی‌بادی‌ها بر علیه سایر آنتی‌ژن‌ها تولید می‌شوند، یعنی در میاستنی گراویس آنتی‌بادی بر علیه گیرنده استیل کولین تولید می‌شود، در آنتی‌بادی‌های SS بر علیه پروتئین‌های ریبونوکلئوپروتئین Ro / La، و در آنتی بادی‌های هاشیموتو تیرودیتیس اغلب علیه Thyroperoxidase و Thyroglobulin اند. سنجش لوکالیزیشن NET مبتنی بر سلول، حضور اتوآنتی‌بادی‌ها علیه هیستون‌ها در مایع سینویال یا نوتروفیل‌های در گردش در بیماران RA را تایید می‌کند. بنابراین این پادتن‌ها به عنوان پادتن‌های ضد NET شناخته می‌شوند. بلوغ جنسی در این آنتی‌بادی‌های ضد NET در GC خارج از رحم رخ می‌دهد و با محیط کوچک سینوویال غنی می‌شود.

عوامل محیطی مانند عفونت باکتریایی و سیگار کشیدن نیز منجر به تولید ACPA در RA می‌شود. بیماری‌های دوره‌ای (به عنوان مثال، P. gingivalis) و سیگار کشیدن می‌تواند باعث تشکیل آنتی‌ژن‌های سیترولینه در خارج از مفاصل شود و می‌تواند منجر به تولید ACPA قبل از پیشینه بالینی بیماری شود. توجه داشته باشد که P.gingivalis تنها پاتوژن

www.takbook.com



گزارش‌شده که PAD را بیان می‌کند، که هم پروتئین‌های درونزا و هم پروتئین‌های میزبان است که به تشکیل ACPA کمک می‌کند را سیترولینیت می‌کند.

بیوپسی‌های برونکیال از بیماران RA اولیه شواهدی را در حمایت از حضور انفیلتراسیون التهابی شامل سلول‌های T، سلول‌های B، و سلول‌های پلاسما و ساختارهای شبیه GC فراهم می‌کند. افزایش محتوای پروتئین‌های سیترولینه در مایع سینویال، بافت پریودنتال و ریه به شدت نشان‌دهنده وقوع نتوزیس در بیماران RA و حضور GCs نابجا است. به خوبی ثابت شده‌است که افزایش غلظت پروتئین‌های وابسته بهNET به دلیل افزایش تولید و یا پاک‌سازی ناکارآمد آنتی‌ژن‌های خودکار سیترولینه شده از گردش خون، قادر به تحریک یک پاسخ خود ایمنی است. NETها نشان می‌دهند که پروتئین‌های سیترولینه شده منشا گرفته از کولیسیدین یا پروتئین گروه تحرک بالا 1 - box (HMGB1) همراه با سیگنال‌های خطر که فعالسازی و بلوغ APCs حرفه‌ای را ارتقا می‌دهند. APCs فعال شده، NETها را در خود جای داده و آن را بیشتر پردازش می‌کنند. این عملکرد APCs، گسترش سلول‌های T را تسهیل می‌کند و هم‌چنین از بلوغ ترکیبی و تنوع کلونی سلول‌های B پشتیبانی می‌کند.

## نقش نتوزیس در تولید DNA بدون سلول در آرتریت روماتوئید

DNA بدون سلول (cfDNA) یکی دیگر از پیامدهای اصلی نتوزیس است و هم‌چنین اثرات مخربی در پیشرفت RA دارد. این یکی از واکنش‌های خود ایمنی است تجمع cfDNA و تحریک پاسخ ایمنی در برابر آن، به پاک‌سازی ناکارآمد اجزای NET از گردش خون بستگی دارد.. CfDNA قادر به فعال کردن پاسخ‌های ایمنی با واسطه TLR است و هم‌چنین تولید آنتی‌بادی بر علیه آنتی‌ژن‌های سیترولینه و آنتی‌ژن‌های ضد هسته‌ای را تسریع می‌کند. آنتی‌ژن‌ها بیشتر سلول‌های TLR و B را فعال می‌کنند و این فعال‌سازی منجر به تولید سایتوکاین‌ها و کموکاین ها می‌شود. لیپوپپتیدهای میکروبی نقش فعالی در ایجاد TNF و IL 17 - دارند که منجر به التهاب در بیماران RA می‌شوند. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که سطوح cfDNA، cfRNA و آنتی‌بادی علیه آن‌ها در طول شرایط RA افزایش می‌یابد.

در نتیجه به خوبی مشخص شده‌است که نتوزیس نقش فعالی در پاتوژنز RA به همراه دیگر بیماری‌های خود ایمنی ایفا می‌کند و غلظت سرمی سیتوکین‌های مشتق از نتوزیس و

www.takbook.com



اتوآنتی‌بادی‌ها در موارد شک به RA ممکن است به عنوان یک ابزار تشخیصی مکمل جدید عمل کند.

## درمان‌های مبتنی بر تعدیل نتوزیس در آرتریت روماتوئید

ثابت شده‌است که تریپتولید (TP) اثر بالقوه به عنوان مکانیزم آنتی Arthritic است. مطالعات اخیر در مدل موش از RA نشان داده‌است که اثر TP در مدل آرتریت ناشی از ارتریت (AA) موش از RA TP با کاهش جذب نوتروفیل‌ها، AA را روشن می‌کند و هم‌چنین بیان اینترلوکین ۶ و TNF-a را کاهش می‌دهد. TP هم‌چنین قادر به سرکوب بیان سایتوکاین‌های پیش التهابی در نوتروفیل‌ها است، هم‌چنین آپوپتوز نوتروفیل‌ها را افزایش می‌دهد و مهاجرت، نتوزیس و اتوفاژی نوتروفیل‌ها را مهار می‌کند. بنابراین TP نشان‌دهنده یک عامل درمانی بالقوه برای RA است. به طور مشابه، Tocilizumab هم‌چنین پتانسیل کاهش اتوآنتی‌بادی‌ها در سطح سرمی در بیماران RA را نشان می‌دهد.

## نتوزیس در لوپوس اریتماتوز سیستمیک

SLE یک بیماری خود ایمنی چند عاملی است که اندام‌های مختلف را تحت‌تاثیر قرار می‌دهد و در زنان در سنین باروری شایع‌تر است. نشانه‌های مولکولی SLE، تشکیل طیف متمایزی از اتوآنتی‌بادی‌ها علیه عناصر هسته‌ای و سیتوپلاسمی و تنظیم غیر مستقیم ژن‌های تنظیم‌کننده اینترفرون نوع I است. این بیماری ناهمگونی زیادی هم در اتوآنتی بادی آن‌ها و هم در تظاهرات بالینی با بیش‌ترین نوع اتوآنتی بادی تولید شده علیه DNA دو رشته‌ای (dsDNA) نشان می‌دهد. در SLE، NETها با تحریک اتوآنتی بادی علیه اتوآنتی ژن‌هایی مانند خود دی ان ای، هیستون‌های سیترولینه، الاستاز نوتروفیل و غیره به تشدید بیماری کمک می‌کنند.

## اجزای تله خارج سلولی نوتروفیل‌ها در لوپوس اریتماتوی سیستمیک

گزارش شده‌است که پروتیین‌های NET عمدتا بیکوئیتین هستند و اتوآنتی‌بادی‌ها علیه MPO بیکوئیتین در بیماران SLE دیده شده‌است. به طور معمول، ماکروفاژهای مشتق از مونوسیت، اجزای NET از پیش پردازش شده را درونی سازی می‌کنند. این پیش‌پردازش

www.takbook.com



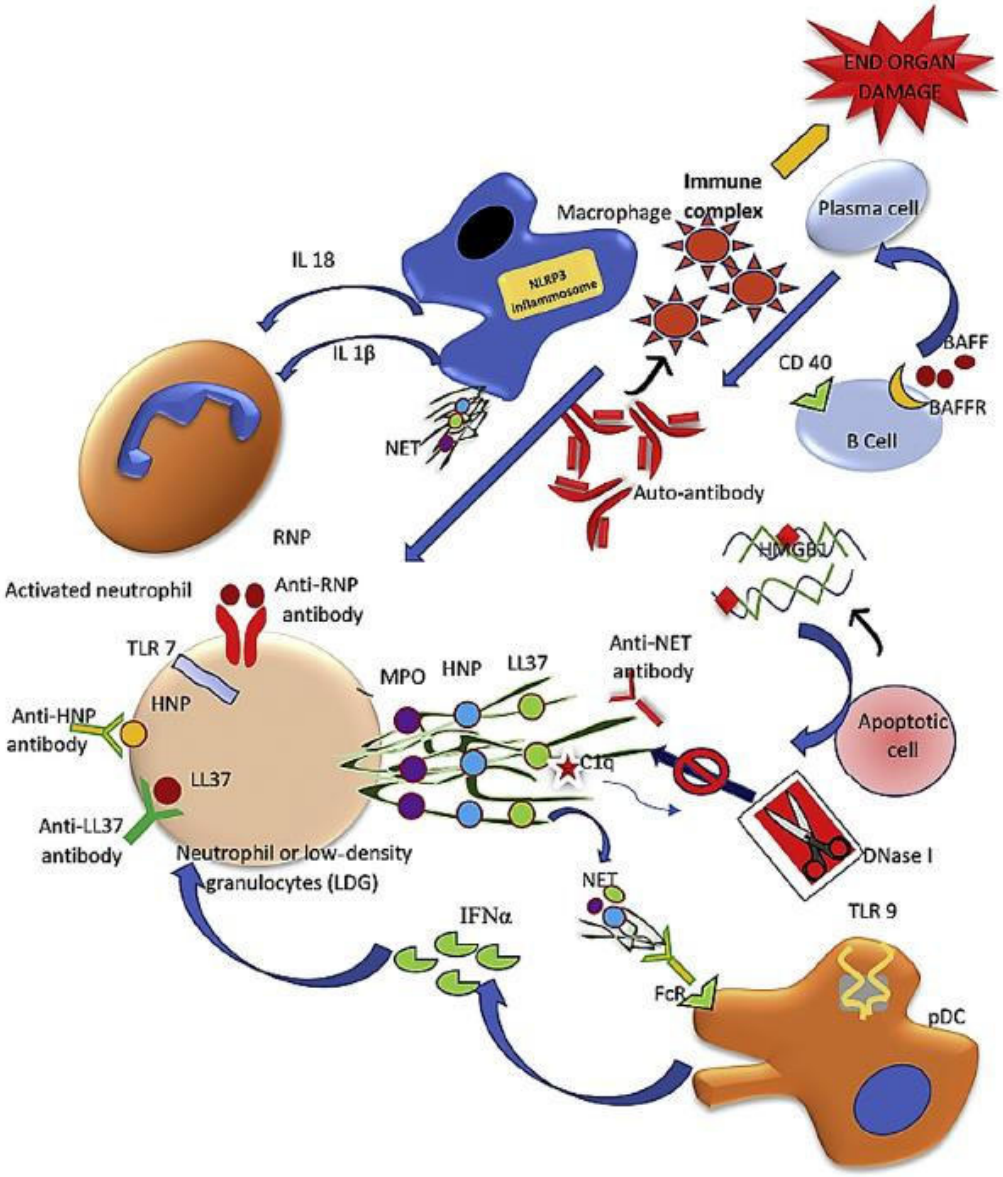
توسط اندونوکلئاز DNase I انجام می‌شود. NETها پس از بلعیده شدن از طریق فاگوزوم به لیزوزوم منتقل می‌شوند تا تجزیه شوند. ماکروفاژهای مشتق از مونوسیت‌ها با پروتئین‌های NET یوبیکوئیتین تحریک می‌شوند تا نفوذ کلسیم در سلول‌ها را افزایش دهند. این امر تولید افزایش‌یافته سایتوکاین‌هایی مانند TNF-a و IL - 10 را تحریک می‌کند، که بعداً مانع از آزاد سازی اجزای NET توسط ماکروفاژها در بیماران SLE می‌شود. این تداخل ناقص NETها منجر به تجمع خود - dsDNA می‌شود. در افراد سالم، ماکروفاژها به طور فعال در پاک‌سازی اجزایNET بدون ترشح سایتوکاین‌های پیش التهابی و بدون آسیب رساندن به بدن شرکت می‌کنند. آزادی عمل نت توسط ماکروفاژها منجر به مقدار زیادی از پروتئین‌های نت از جمله dsDNA در بیماران SLE می‌شود. با این حال، مکانیسم‌هایی که توسط آن پروتئین‌های NET به GC می‌رسند و تولید اتوآنتی بادی را آغاز می‌کنند به خوبی درک نشده است.

## نقش DNase I

DNase I، که یک اندونوکلئاز اصلی در گردش یا سیرکولیشن است، نقش اصلی را در تخریب NET ایفا می‌کند. مشخص شده‌است که بیماران SLE در مقایسه با افراد عادی، فعالیت DNase I پایینی در سرم خود دارند (شکل ۵-۲).

www.takbook.com






**شکل ۵-۲. نتوزیس در پیشرفت SLE. در SLE، گرانولوسیت های با چگالی پایین (LDGها) هنگامی که آن‌ها توسط اتوآنتی‌بادی‌های ضد HNP یا LL37 یا کمپلکس‌های ایمنی RNP / آنتی RNP به دنبال القای TLR7 القا می‌شوند، NETهای خود به خودی تولید می‌کنند. حضور عوامل مهاری DNase I در سرم SLE (مانند anti - NET Abs، LL37، یا C1q) از تخریب NETها جلوگیری می‌کند. تحریک pDC از طریق FcRIIa و TLR9 منجر به engulfment یا غرق شدن NET می‌شود که منجر به ترشح IFN می‌شود. به طور همزمان، الفاIFN نوتروفیل‌ها را برای نتوزیس اضافی توسط تنظیم بالادست TLR7 همراه با پروتئین‌های دانه‌ای سطح (مانند LL37 و HNP) آغاز می‌نماید. فعال‌سازی T-cell و - B cell توسط IFN تولید anti - NET Abs، مانند anti - dsDNA، anti – LL37، و anti - HNP Abs را تحریک می‌کند. هم‌چنین NETها موسزوم های التهابی NLRP3 را در ماکروفاژها فعال می‌کنند تا سنتز IL-1 و IL–18 را تحریک کند. این دو، در نوبت، می‌توانند نتوزیس را ایجاد کنند. این تداخل بین حلقه‌های مولکولی به یک هومئوستازی مختل شده ایمنی خلاصه می‌شود که منجر به پاسخ خود ایمنی در پاتوژنز SLE می‌شود.**

www.takbook.com



موش با کمبود DNase I علائم نوعی از SLE را نشان می‌دهد، مانند حضور آنتی‌بادی ضد هسته به طور خاص علیه dsDNA، حضور کمپلکس‌های ایمنی در گلومرول‌ها. گزارش شده‌است که جهش‌های حس نادرست در DNase I و DNase 1L3 که به عنوان گاما DNase شناخته می‌شوند، باعث موارد خانوادگی SLE می‌شوند، در حالی که جهش در DNase منجر به بیماری لوپوسی مانند در موش می‌شود. NETs حاوی DNA اکسید شده به شکل ۸ - هیدروکسی گوانوزین هستند، که از DNA در برابر تجزیه توسط اندونوکلئازها محافظت می‌کند. بنابراین رسوب بیش از حد خوددی ان ای بیماران SLE است که فعالیت DNase ناکارآمد را نشان می‌دهد. آنتی‌بادی‌های ضد NET، جز مکمل C1q، به عنوان مهار کننده DNase I، با حفاظت ازNET در برابر تخریب عمل می‌کنند. C1q به NET سپرده میشود تا از تخریب آنها محافظت کند.

پپتیدهای ضد میکروبی مانند LL37 یا HMGB1 که به NETها وصل می‌شوند با تخریب NETها با واسطه DNase I تداخل دارند. وجود آنتی‌بادی‌های اکتین کروی-G) (actinو ضد DNase I نیز در سرم بیماران SLE شناسایی می‌شود. به همین دلیل می‌توان نتیجه گرفت که اختلال در فعالیت DNase I منجر به تجمع اتو آنتی‌ژن‌های NET می‌شود که باعث پاتوژنز SLE می‌شود.

## تله‌های خارج سلولی نوتروفیل سلول‌های دندریتیک پلاسماسیتوئید را به سمت تولید اینترفرون نوع ۱ در لوپوس اریتماتوز سیستمیک هدایت می‌کنند

تداخل‌های نوع I نقش مهمی در پاتوژنز SLE ایفا می‌کنند (شکل ۲-۵). سطح بالای تداخل نوع ۱ در سرم بیماران SLE دیده می‌شود و ارتباط مثبتی با پیش‌آگهی بیماری دارد. تعداد زیادی از ژن‌های قابل القا IFN در سلول‌های تک هسته‌ای خون پریفرال بیماران SLE بیان می‌شوند. تداخل‌های نوع ۱، تمایز سلول‌های دندریتیک پلاسماسیتوئید (pDCs) از مونوسیت‌ها را در تعامل با آنتی‌ژن‌های خودی NET، نشان می‌دهند. بنابراین تفکیک تحمل محیطی در SLE را اجرا می‌کند. این DCs القا شده توسط IFN به طور گسترده آنتی‌ژن‌های خودی را به سلول‌های کمکی T ارائه می‌دهند که منجر به انبساط غیر عادی سلول‌های اتوراکتیو T و B می‌شود. لند و همکارانش گزارش کردند که کمپلکس ایمنی حاوی DNA و

www.takbook.com



پپتیدهای ضد میکروبی، مانند LL37 و پپتید نوتروفیل انسان (HNP)، هم‌چنین PDCها را با تولید IFN فعال می‌کند.

گرانولوسیت‌های با تراکم کم ظرفیت بالایی برای ساختن تله‌های خارج سلولی نوتروفیل دارند.

علاوه بر امضای IFN، بیماران SLE نیز یک امضای نوتروفیل متمایز را در خون محیطی خود نشان می‌دهند. این علامت قطعی گرانولوپوئزیس ناشی از حضور گرانولوسیت‌های با تراکم کم (LDGها) در PBMCs است. گزارش شده‌است که LDGها عملکرد فاگوسیتوز را مختل کرده‌اند.

LDGها در مقایسه با نوتروفیل نرمال تمایل بیشتری از NETها دارند (شکل ۲-۵). شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد جمعیت بالای LDGها در بیماران SLE وجود دارد. ویلانووا و همکاران (۲۰۱۱) از طریق آزمایش‌های آرایه ژنی گزارش دادند که LDGهای بیماران SLE تعداد بالایی از پروتئین‌های ضد باکتری و آلارمین‌ها را در مقایسه با تراکم نرمال SLE و کنترل نوتروفیل‌ها دارند. علاوه بر این، تشکیل پیشرفته NET توسط LDGها نیز در SLE گزارش شده‌است. تشکیل Ge بالاتر منجر به افزایش در معرض قرار گرفتن آنتی‌ژن NET از جمله LL37، dsDNA همراه با سایتوکاین‌های پیش‌برنده التهاب می‌شود که منجر به اختلال در اندوتلیوم متعاقب آسیب‌های عروقی می‌شود. بنابراین LDGها می‌توانند به عنوان نشان‌گر SLE عمل کنند و حضور آن‌ها به طور مثبت با ضایعات پوستی و واسکولیت در بیماران SLE مرتبط است.

## تله‌های خارج سلولی نوتروفیل واسطه فعالیت التهابی افزایش‌یافته در لوپوس اریتماتوز سیستمیک

اینفلامیزوم‌ها کمپلکس‌های چند پروتئینی هستند که با تهدیدهای بیماری‌زا مواجه می‌شوند و منجر به فعال‌سازی و آزاد سازی سایتوکاین‌های پیش‌برنده التهاب 1 - IL و 18 - IL با واسطه فعال‌سازی کاسپاز - ۱ می‌شوند (شکل ۲-۵). NET و اتوآنتی ژنه‌ای وابسته به NET قادر به فعال کردن سیستم التهابی هستند. گزارش شده‌است که ماکروفاژهای اولیه LPS در هنگام تعامل با NET یا LL37 فعال می‌شوند، که منجر به فعال شدن آنزیم مرکزی کاسپا ز -۱ در سلول‌های التهابی می‌شود که منجر به ترشح 1 - IL و 18 - IL می‌شود.

www.takbook.com



LL37 تجمع خانواده گیرنده شبه Nod، دامنه پیرین حاوی سه پروتئین (NLRP3) در التهاب ماکروفاژها را افزایش می‌دهد. علاوه بر این، فعال‌سازی التهابی القا شده توسط GR و LL37 در بیماران SLE نسبت به کنترل افزایش می‌یابد که منجر به افزایش ترشح IL - 18 نیز می‌شود . به طور همزمان، هم IL - 1 و هم IL - 18 ترشح‌شده، هم باعث ایجاد لایه NET می‌شوند و یک حلقه بازخورد را تشکیل می‌دهند که پاتوژنز بیماری در SLE را تسهیل می‌کند.

## تخریب تله خارج سلولی نوتروفیل در لوپوس اریتماتوز سیستمیک

مشخص است که بیماران SLE نمی‌توانند NETها را پاک کنند که منجر به پاتوژنز نفریت لوپوسی می‌شود.

هاکین و همکاران نشان‌دادند که اندونوکلئاز DNase 1 سرمی برای تخریب NETها ضروری است.

آن‌ها مشاهده کردند که تجزیه ناکارامدی از NETها توسط سرم یک زیرمجموعه خاص SLE وجود دارد. این امر ممکن است تداوم و در معرض قرار گرفتن اجزای NET را به اندازه کافی طولانی کند تا سیستم ایمنی آن‌ها را به عنوان آنتی‌ژن‌ها ببینند.

دو مکانیزم که گمان می‌رود مسئول این بی مونتاژی (دیس اسمبلی) NET آسیب‌دیده باشند، پیشنهاد شده‌اند که یا حضور مهار کننده‌های DNase 1 و یا آنتی‌بادی‌های ضد RNase 1 باشند که دسترسی DNase1 به نت ها را مسدود می‌کنند. گسیختگی عملکرد DNase 1 و تخریب NETs ضعیف با درگیری کلیه مرتبط است که نشان می‌دهد آن یک شاخص مفید از درگیری کلیه است. با این حال، حدی که این فرآیندهای پاک‌سازی (تخریب تله) در زیرمجموعه‌های متمایز سرولوژیکی از بیماران SLE عمل می‌کنند توسط چوهان، رای، سینگ، رای و رای (۲۰۱۵) ایجاد شد. آن‌ها در گزارش خود، تخریب NET و کارایی فاگوسیتوز نوتروفیل را در میان بیماران SLE با ویژگی‌های اتوآنتی بادی مختلف ارزیابی کردند. بیماران SLE براساس پروفایل اتوآنتی‌بادی خود (آنتی dsDNA، آنتی ENA، یا هر دو) که توسط ELISA تعیین شده‌بود، به سه زیر مجموعه طبقه‌بندی شدند. تخریب NET و فاگوسیتوز ناشی از نوتروفیل توسط SLE و سرم‌های کنترل مورد ارزیابی قرار

www.takbook.com



گرفت. تفاوت‌های قابل‌توجهی در تجزیه NET و فاگوسیتوز در بیماران SLE با اتوآنتی‌بادی علیه dsDNA و ENA مشاهده شد. نرخ تخریب NET در بیماران SLE با اتوآنتی‌بادی‌های ضد dsDNA و نه در افراد با اتوآنتی‌بادی‌های ضد ENA، راندمان تجزیه به طور قابل‌توجهی مختل شد. با این حال، بر خلاف تجزیه NET، فاگوسیتوز ناشی از نوتروفیل در هر سه زیر مجموعه مستقل از ویژگی اتوآنتی‌بادی مختل شد. این مشاهدات نشان می‌دهد که مکانیسم‌های مختلف پاک‌سازی NET در زیرمجموعه‌های SLE با آنتی dsDNA یا اتوآنتی‌بادی‌های ضد ENA عمل می‌کنند. براساس این مشاهدات پیشنهاد شد که درمان‌های مورد نظر در بهبود فضای NET در بیماران ضد dsDNA+ SLE می‌توانند موثر باشند.

## تله خارج سلولی نوتروفیل‌ها نقش حفاظتی در لوپوس اریتماتوی سیستمیک ناشی از دارو دارد

کینهاور و همکاران (۲۰۱۷) پیشنهاد می‌کنند که NETها نیز می‌توانند نقش محافظتی در برابر لوپوس ناشی از دارو داشته باشند. آن‌ها نقش نوتروفیل‌ها و NETها را بر روی مدل موشی از لوپوس که با تزریق درون صفاقی پریستان آلکان تحریک شده‌بود، بررسی کردند. لوپوس اولیه ناشی از افزایش سطح اتوآنتی‌بادی‌های هسته‌ای (ANAs) و تشدید گلومرولونفریت، در دو نژاد موش که از نظر ژنتیکی برای القای تشکیل netمختل بودند، تشدید شد، یعنی موش‌های با نقص NOX2 (Ncf1 - جهش‌یافته) و موش‌های با نقص PAD4. آن‌ها کاهش توانایی تشکیل NETهای القا شده توسط پریستان را هم در موش‌های با نقص NCF1 و هم موش‌های با نقص PAD4 مشاهده کردند، اگرچه سطح بالایی از واسطه‌های التهابی در صفاق وجود داشت. این یافته‌ها با نتایج مطالعه با استفاده از مدل موش نوتروپنیک که سطوح بالاتری از ANAها را نشان داد، تایید شد، که نشان می‌دهد NETها و نوتروفیل‌ها یک عملکرد تنظیمی در لوپوس دارند.

www.takbook.com



## نقش DNA میتوکندریایی در تله خارج سلولی نوتروفیل در لوپوس اریتماتوسیستمیک

تعیین جایگاه DNA میتوکندریایی (mtDNA) در NETها در نمونه بیوپسی کلیه نفریت لوپوسی گزارش شده‌است. حضور سطوح بالای mtDNA در NETها و سطوح آنتی‌بادی ضد mtDNA در بیماران SLE در مقایسه با گروه کنترل تشخیص داده شد و به طور قابل‌توجهی با نمرات IFN و شاخص فعالیت بیماری مرتبط بود. جالب توجه است که mtDNA پتانسیل زیادی برای تحریک تولید IFN از pDCها از طریق TLRs دارد. متافرمین اثر مثبتی را در تنظیم مسیر GT PDC IFN نشان داده‌است. فلزات باعث کاهش تولید net القا شده توسط PMA و تولید PDC IFN تحریک‌شده توسط CpG می‌شوند. بنابراین متفورمین ظرفیت درمان بیماران SLE را با کاهش کارایی net دارد.

## درمان مبتنی بر تله خارج سلولی نیوتونی در تله‌های خارج سلولی نوتروفیل

تاثیر مهار JAK بر نتوزیس و لوپوس اریتماتوی سیستمیک:

نشان‌داده شده‌است که Tofacitinib با هدف قرار دادن JAK1 و JAK3 در مدل‌های موش لوپوس، نقش مفیدی در SLE بازی می‌کند. Tofacitinib عمدتا سلول‌های ایمنی سازگار را به طور خاص با کاهش سلول‌های CD8- 1 و سلول‌های T منفی دوگانه (DN) تحت‌تاثیر قرار می‌دهد. گزارش شده است که تعداد زیادی از سلول‌های T CD8-1 با فعالیت بیماری مرتبط هستند و ممکن است از طریق مسیرهای مرتبط perforin / granzyme در SLE منجر به تولید اتوآنتی‌ژن شوند. تولید IFNهای نوع ۱ توسط اسیدهای نوکلئیک درونی یک رویداد اولیه است که اختلال در تنظیم ایمنی را ایجاد می‌کند و خود ایمنی را توسعه می‌دهد. بنابراین داروهایی که مسیر نوع I IFN را هدف قرار می‌دهند عمدتا در حال بررسی هستند. IFNهای نوع I از طریق مسیر JAK / STAT سیگنال می‌دهند.

بنابراین مهار این مسیر به وسیله Tofacitinib می‌تواند منجر به اثرات پلیوتروپیک تنظیم‌کننده اختلال در تنظیم پاسخ‌های ایمنی ذاتی و انطباقی شود که شامل آماده‌سازی نوتروفیل‌ها برای تشکیل net، تغییرات در تکوین سلول B و بهبود در واسکولوپاتی لوپوس است. توفیتینیب تشکیل تله را تنظیم می‌کند و انقباض عروقی وابسته به اندوتلیوم و تمایز

www.takbook.com



اندوتلیال را به شدت افزایش می‌دهد. بنابراین این دارو هم برای استراتژی‌های پیشگیرانه و هم برای استراتژی‌های درمانی موثر است.

## اثر سلول‌های B که داروها را در نتوزیس مهار می‌کنند

کمپلکس‌های ایمنی هم‌چنین قادر به تحریک تشکیل NET در شرایط آزمایشگاهی در SLE هستند. ریتوکسیمب و همکاران اثر این داروها در درمان بیماری‌های خود ایمنی از جمله SLE را مورد بررسی قرار دادند. گزارش شده‌است که RTX و BLM به طور موثری ANAs را کاهش می‌دهند و هم‌چنین از تشکیل بیش از حد تله در شرایط خارج از بدن، پسرفت می‌کنند. پیشنهاد شده است که هدف قرار دادن سلول B توسط RTX و BLM به طور غیر مستقیم تشکیل نت توسط نوتروفیل‌ها را تنظیم می‌کند. درمان RTX و BLM کاهش ترجیحی سطوح اتوآنتی بادی را در مقایسه با سطوح آنتی‌بادی فیزیولوژیکی نشان داد که نشان می‌دهد سلول‌های پلاسمای ترشح کننده اتوآنتی بادی بیشتر مستعد RTX و BLM هستند.

## تله‌های خارج سلولی نوتروفیل‌ها در مالتیپل اسکلروزیس

MS یک بیماری خود ایمنی، التهابی مزمن و دمیلینه کننده سیستم عصبی مرکزی است که با دژنراسیون ثانویه عصبی همراه است. این بیماری شایع‌ترین علت ناتوانی عصبی در میان جوانان بالغ است که بیش از ۲ میلیون نفر را در سراسر جهان تحت‌تاثیر قرار می‌دهد. علت MS شامل هر دو ویژگی ژنتیکی پیچیده و عوامل محیطی است. سلول‌های Th17 و سلول‌های Th1 CD4 اتوراکتیو نقش محوری در پیشرفت بیماری دارند. سلول‌های Th17 در پاسخ‌های پیش التهابی با واسطه نوتروفیل، و پرایمینگ نوتروفیل، نوتروفیل‌هایی که سطوح بالاتری از مدولازین را بیان می‌کنند و یا پروتئاز خنثی نوتروفیل افزایش‌یافته در بیماران MS در طول عودهای بالینی توصیف شده‌است. جالب توجه است که مطالعات در مدل موشی برای MS، خود ایمنی تجربی، نشان می‌دهد که نوتروفیل‌ها نقش پاتوژنی مهمی را در بیماری آنسفالومیلیت بازی می‌کنند.

www.takbook.com



## سطوح بالاتر گردش تله‌های خارج سلولی نوتروفیل در سرم بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس عود کننده – بهبود یابنده

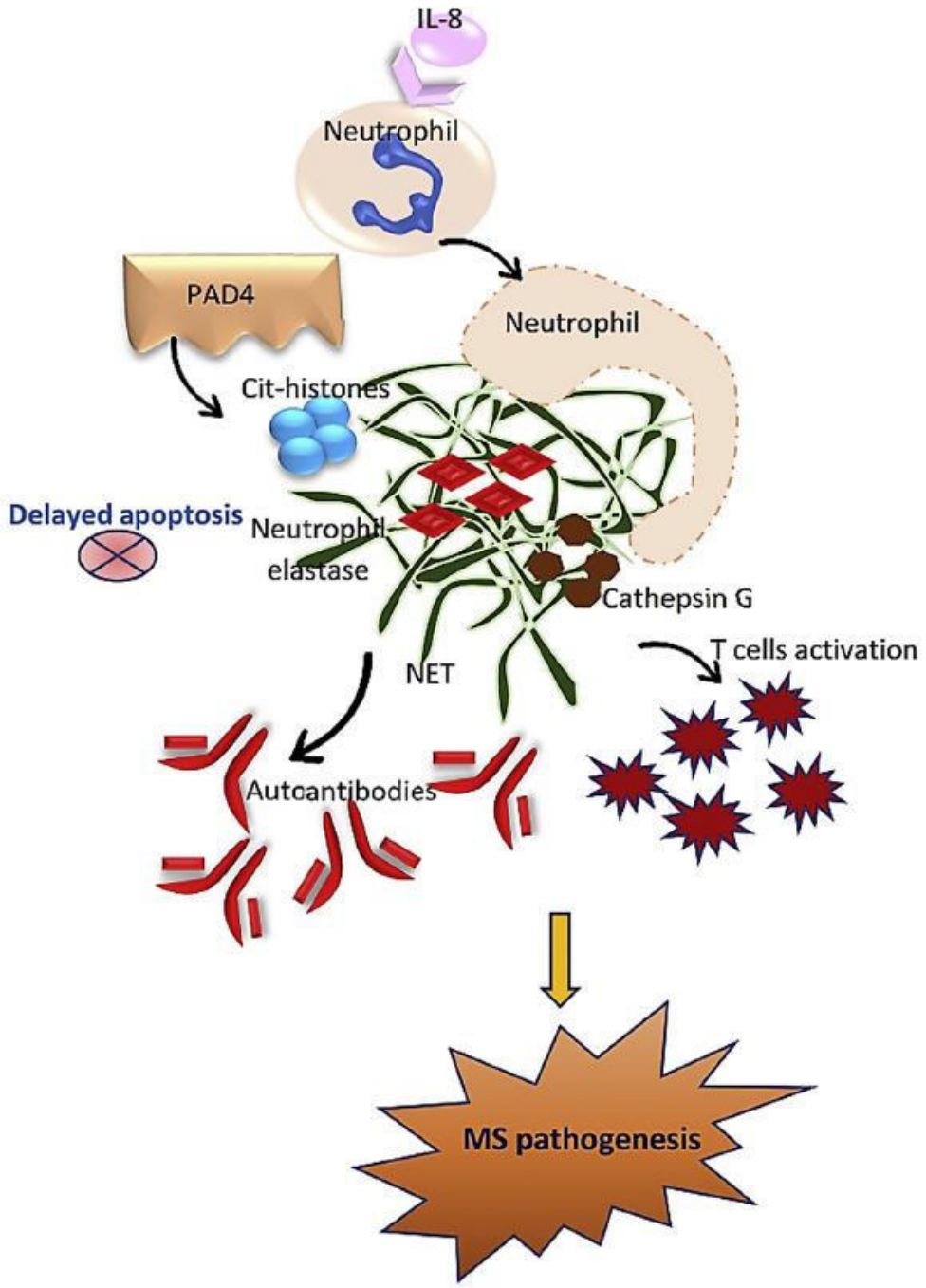
نتوزیس هم‌چنین در پاتوژنز MS دخیل است زیرا مشاهده شده‌است که نوتروفیل‌ها در MS و بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس عود کننده - فروکش کننده (RRMS) تمایل بیشتری برای انجام دگرانولاسیون، انفجار اکسیداتیو و انتشار RNC در مقایسه با کنترل‌های سالم دارند. افزایش مقدار NETs منجر به تجمع خود آنتی‌ژن‌ها و در نتیجه التهاب می‌شود (شکل ۵-۳).

هم‌چنین مشخص شد که نسبت پروتیین (الاستاز نوتروفیل، CD63) در مقادیر بالاتر در بیماران MS یا بیماران MS با عود ناشی از دگرانولاسیون نوتروفیل وجود دارد. تشکیل NET در MS می‌تواند توسط واسطه‌های التهابی نوع 8 - IL تحریک شود و اگر چه NETها در از بین بردن عوامل بیماری‌زا بسیار کارآمد هستند، اما تولید بالای NETها می‌تواند با شرایط پاتوفیزیولوژیکی همراه باشد. اگرچه نتوزیس یک مکانیزم دفاعی از نوتروفیل‌ها است که نقش حفاظتی برای میزبان بازی می‌کند اما در MS با تحریک اتوآنتی‌بادی‌ها مرتبط است. بیان بیش از حد PAD4 منجر به تولید ناگهانی پروتئین‌های سیترولینه شده است. اتوآنتی بادی علیه این سیترولینه شده که واکنش ایمنی بدن را فعال می‌کند.

ثابت شده‌است که آپوپتوز با تاخیر منجر به تجمع اجزای NET در بیماران MS می‌شود که منجر به القای اتوایمنی می‌شود. مقدار بالای کاتپسین G، الاستاز، باعث افزایش فعالیت سلول T و آسیب بافتی دخیل در پاتوژنز MS می‌شود. یک مطالعه دیگر توسط میرونوکیج و همکاران (۲۰۱۶) یک میوزین غیر مرسوم (My1C) را شناسایی کرد که به طور فراگیر در مهره‌داران وجود دارد و مشخص شد که در سطوح بالایی در بیماران MS وجود دارد.

www.takbook.com






**شکل ۵-۳. اثر NETs در پاتوژنز MS. در بیماران MS، نوتروفیل‌ها در شرایط فوق فعال هستند در حالی که تحت دگرانولاسیون، انفجار اکسیداتیو و تشکیل NET قرار می‌گیرند. به دلیل تاخیر در اپوپتوز، اجزای NET آزاد شده در گردش باقی می‌مانند که منجر به تجمع اتوآنتی‌بادی‌ها علیه پروتئین‌های سیترولینه می‌شود. پروتئین‌های ضد میکروبی که از NETosis ترشح می‌شوند باعث افزایش فعالیت سلول T می‌شوند که منجر به آسیب بافت در پاتوژنز MS می‌شود.**

www.takbook.com



دلیل احتمالی فراوانی Myo1C می‌تواند تشکیل NET بیش از حد در بیماران MS باشد. بنابراین، بخش پروتئولیتیک My1C می‌تواند به عنوان یک نشان‌گر کمی از نتوزیس در شرایط خود ایمنی عمل کند به طوری‌که My1C نیز در بیماران SLE و RA وجود دارد.

## تله خارج سلولی نوتروفیل‌ها، تفاوت جنسیتی خاصی را در پاتوژنز بیماری مالتیپل اسکلروزیس نشان می‌دهد

یک ویژگی جالب NETها در شرایط MS این است که NETها دارای اثرات ژنتیکی خاص در پاتوژنز هستند به طوری که سطوح بالایی از NETهای در گردش در مردان با RRMS مشاهده می‌شوند. از آن‌جا که فراوانی مردان مبتلا به این بیماری به طور کلی بیشتر از زنان است، نتایج نشان می‌دهد که نتوزیس ممکن است در هسته برخی از تفاوت‌های خاص جنسیتی در این بیماری باشد و در برخی از جنبه‌های پاتوژنز MS مانند نقض سد خونی مغز دخیل باشد.

به طور قابل‌توجهی سطح بالاتر NETها در سرم بیماران MS یافت می‌شود و فرض بر این است که این موارد ممکن است در پاتوژنز MS دخیل باشند. یک گروه بزرگ از بیماران MS شامل بیمارانی که از سایر اشکال MS بجز RRMS رنج می‌برند، تحلیل شدند، و مشاهده شد که تنها یک زیرمجموعه کوچک از بیماران RRMS مقدار NETs در گردش را افزایش داده‌است. علاوه بر این، زنان در سن باروری در مقایسه با مردان دارای سطوح نوتروفیل سیستمیک بالاتری هستند، این یک مشاهده مرتبط است زیرا RRMS عمدتا زنان را تقریبا دو برابر مردان تحت‌تاثیر قرار می‌دهد، اما مشخص شده‌است که بیماران نر RRMS دارای NETهای بالایی در سرم هستند. با این حال، هیچ تفاوت خاص جنسیتی در تعداد نوتروفیل‌ها و حالت آماده گزارش نشده است. این مساله نقش تفاوت‌های خاص جنسیتی در پاتوژنز MS در بیماران RRMS را برجسته می‌کند، اگرچه به نظر نمی‌رسد که سطوح بالای NET در گردش یک ویژگی کلی از بیماران RRMS باشد. MS یک بیماری بسیار پیچیده است که شامل مکانیزم‌های بسیار متنوع است. Neutrophils به طور معمول در CNS بیماران MS وجود ندارد، این پدیده NETهای با گردش بالاتر در برخی بیماران RRMS به طور خاص در مردان می‌تواند یک تغییر در تشکیل RNT یا در تخریب RNT را منعکس کند. اگرچه هیچ تفاوتی در نتوزیس بین نوتروفیل‌های خالص شده از RRMS و کنترل سالم

www.takbook.com



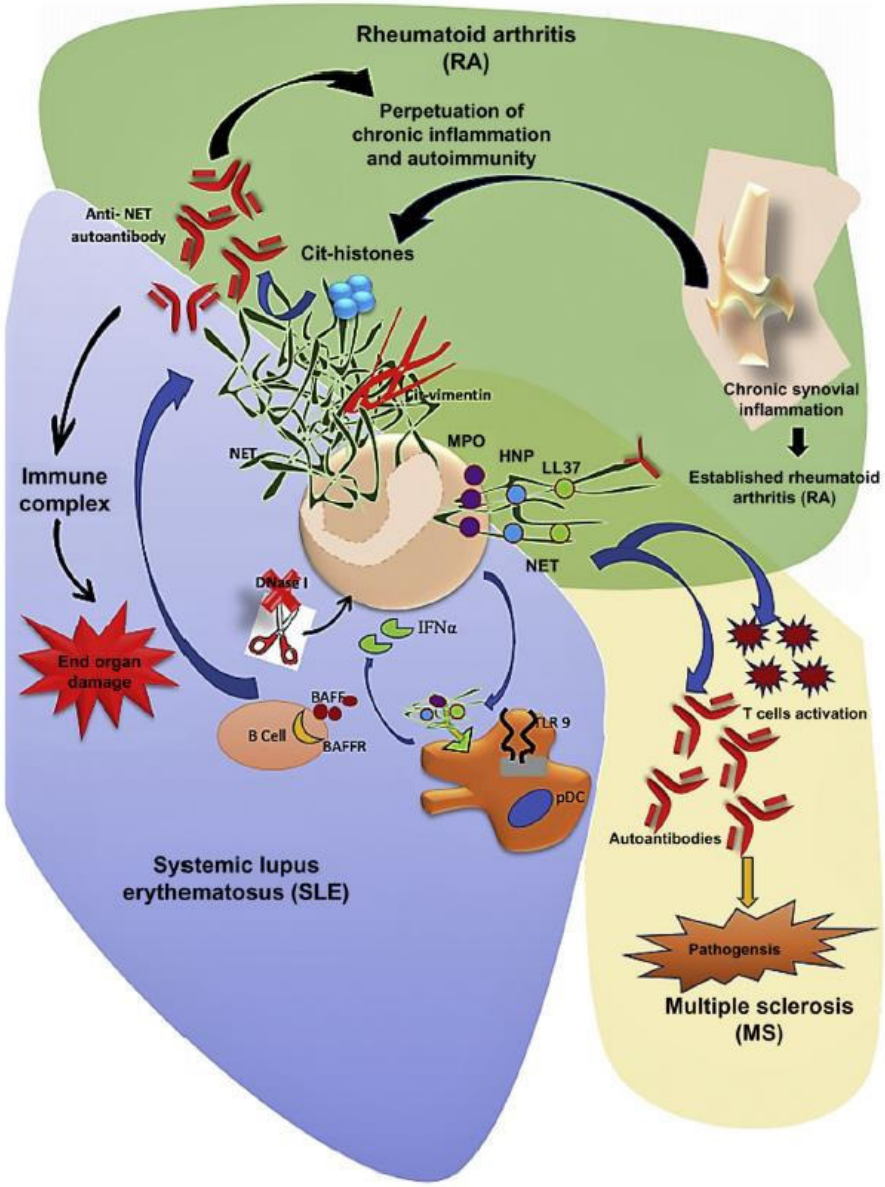
و هیچ تفاوت قابل‌توجه خاص جنسیتی مشاهده نشد. با این حال، بیماران نر RRMS، در مقایسه با بیماران زن، دارای دی ان ای بدون سلول بیشتری در سرم هستند که یک فعالیت DNAse غیرطبیعی را نشان می‌دهد. این را می‌توان به سطوح بالاتر NET در بیماران نر RRMS نسبت داد. با این حال، در SLE، که در آن زنان ۱۰ برابر بیشتر از مردان تحت‌تاثیر قرار می‌گیرند، مشخص شد که نرها با بیماری‌های شدیدتر و هم‌چنین با شیوع بالاتر اتوآنتی‌بادی‌های ضد دی ان ای بیماری‌زا در ارتباط هستند. به طور مشابه، زنان تقریبا دو برابر مردان تحت‌تاثیر RRMS قرار می‌گیرند، و جنسیت کلی مردان نیز با پیش‌آگهی بدتری همراه است.

جالب توجه است که برخی گزارش‌ها نشان داده‌اند که مردان مبتلا به MS نسبت به زنان مستعد ابتلا به ضایعات التهابی کم‌تر اما آسیب‌پذیرتر هستند. مقدار بیشتر سلول‌های اولیه NET در گردش T و دیگر سلول‌های ایمنی و هم‌چنین مهاجرت آن‌ها از طریق سد خونی مغز را تنظیم می‌کند و در نتیجه منجر به فرآیندهای مخرب التهاب عصبی در بیماران نر RRMS می‌شود. گزارش شده‌است که سطح NETها در طول زمان در سرم نوسان می‌کند. این ممکن است با فعالیت بیماری مرتبط باشد اما هیچ ارتباطی بین عودها و NETهای گردش خون بالاتر در سرم وجود ندارد.

در نتیجه می‌توان گفت که نتوزیس نقش مهمی در پیشرفت و پاتوژنز بیماری‌های خود ایمنی مختلف دارد (شکل ۵-۴) و توسعه داروهای مورد هدف در اجزای NET می‌تواند آینده مدیریت بیماری‌های خود ایمنی باشد.

www.takbook.com






شکل ۵-۴. نتوزیس در هسته بیماری‌های خود ایمنی. این شکل دخالت NETها در RA، SLE و MS را خلاصه می‌کند. هیستون‌های سیترولینه شده فراوان‌ترین نوع نت هستند. در اینجا نوتروفیل‌ها به وسیله اتوآنتی‌بادی‌ها از محیط عبور می‌کنند تا مفاصل را تحت‌تاثیر قرار دهند و منجر به بیماری‌های خود ایمنی شوند. در SLE، گرانولوسیت‌های با چگالی کم (LDG ها)، نتوزیس بیش از حد را انجام می‌دهند که منجر به تولید مقدار زیادی اتوآنتی بادی تولید شده توسط سلول‌های B می‌شود. این اتوآنتی‌بادی‌ها با آنتی‌ژن‌های خاص (پروتئین‌های NET) متصل می‌شوند تا کمپلکس‌های ایمنی را تشکیل دهند که در کلیه تجمع می‌یابند و منجر به آسیب کلیه می‌شوند. سپس، کمپلکس‌های ایمنی نیز با القای TLR، pDCs را فعال می‌کنند تا تداخل‌های نوع I را تولید کنند که باعث تشکیل NET بیشتر می‌شوند. در بیماران MS، اتوآنتی‌بادی‌ها در برابر اجزای NET اثر زیان آوری در پیشرفت MS دارند، فعال‌سازی بیشتر سلول T توسط پروتئین‌های ضد میکروبی تولید شده از NETها نیز باعث تخریب بافت می‌شود.

www.takbook.com

# فصل ششم:

## نتوزیس در سایر بیماری‌ها و رویکردهای درمانی

نوتروفیل‌ها به عنوان فاگوسیت‌های ایمنی ذاتی، نقشی مرکزی در پاسخ ایمنی دارند. اعتقاد بر این بود که عملکرد اصلی نوتروفیل‌ها کشتن پاتوژن فاگوسیتوزی از طریق ادغام گرانول‌های حاوی پروتئازهای لیتیک با فاگوزوم ها است. ساختارهای کروماتین شبه وب به نام تله‌های خارج سلولی نوتروفیل (NETs) برای اولین بار در سال ۲۰۰۴ به عنوان یک مکانیسم بیوفیلاکتیک جدید گزارش شد. NET یک مکانیسم دفاعی است که توسط نوتروفیل‌ها برای به دام انداختن و محدود کردن ماهرانه آسیب های وارد شده توسط طیف گسترده‌ای از اهداف میکروبی استفاده می‌شود. علاوه بر دفاع در برابر پاتوژن‌ها برای جلوگیری از انتشار سیستمیک آن‌ها در طول عفونت، تولید NET هم‌چنین با اختلالاتی مانند التهاب استریل، آترواسکلروز و بروز بیماری‌های خود ایمنی مانند لوپوس اریتماتوز سیستمیک مرتبط است. مطالعات اخیر نقش NET را در بیماری‌های عفونی و هم‌چنین در بیماری‌های قلبی عروقی، خودایمنی، اختلالات متابولیک و سرطان نشان می‌دهد. در این فصل، نقش NET در سیستیک فیبروزیس (CF)، دیابت، سرطان، بیماری آلزایمر(AD)،

www.takbook.com



نقرس، پانکراتیت و هم‌چنین بیماری‌های عفونی، با کاوش در فرصت‌های آینده نگر و درمانی مورد بحث قرار خواهد گرفت.

## نتوزیس در سیستیک فیبروزیس

CF یک بیماری ریوی است که با التهاب مزمن راه‌های هوایی ناشی از کلونیزاسیون باکتریایی همراه است. این شایع‌ترین بیماری ارثی تهدیدکننده زندگی است که عمدتاً سیستم تنفسی، دستگاه گوارش و کبد صفراوی، تولید مثل و سیستم اسکلتی عضلانی را درگیر می‌کند. این یک اختلال ژنتیکی اتوزومال است که در نتیجه جهش ژن تنظیم‌کننده غشایی گذرنده فیبروز کیستیک (CFTR) ایجاد می‌شود. جهش ژن CFTR منجر به ترشحات غیرقابل تنظیم در راه‌های هوایی می‌شود که در نتیجه ویسکوزیته بالایی در ریه‌ها ایجاد می‌شود و باعث عفونت ریوی و التهاب در طول جذب نوتروفیل می‌شود. نشان داده شده است که نوتروفیل‌ها مقادیر زیادی از مواد هسته‌ای را از طریق نتوزیس در مجاری هوایی بیماران CF آزاد می‌کنند که می‌تواند به آسیب‌شناسی بیماری کمک کند. پروتئین افزایش دهنده نفوذپذیری باکتری (BPI) یک پپتید ضد میکروبی است که باکتری‌های گرم منفی را هدف قرار می‌دهد و در گرانول‌های آزوروفیل نوتروفیل‌ها ذخیره می‌شود. به دنبال تشکیل NET ناشی از PMA در NET محلی می‌شود. بیماران CF اتوآنتی‌بادی‌های ضد BPI ایجاد می‌کنند که سطح آن با عملکرد ریه ارتباط منفی دارد. این شواهد بیشتری را نشان می‌دهد که NETها در خودایمنی در CF نقش دارند. علاوه بر این، برخی از مطالعات نشان می‌دهد که سطح DNA خارج سلولی با تعداد نوتروفیل‌ها مرتبط است و می‌تواند به عنوان پارامتری برای تعیین التهاب و شدت بیماری ریوی استفاده شود. تولید NET می‌تواند به کلونیزاسیون راه هوایی توسط باکتری‌ها کمک کند، زیرا این میکروارگانیسم‌ها شایع‌ترین میکروارگانیسم‌های موجود در بیماران CF هستند.

بررسی‌های اخیر نشان داد که تشکیل NET باعث ضخیم شدن موکوس در آلوئول‌های بیمار می‌شود و باعث چسبناک شدن آن می‌شود و به طور خاص امکان کلونیزاسیون باکتریایی هموفیلوس آنفولانزا، استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا را فراهم می‌کند. کلونیزاسیون باکتری‌ها می‌تواند باعث نفوذ نوتروفیل‌هایی شود که تحت نتوزیس قرار می‌گیرند، ویسکوزیته خلط را افزایش می‌دهد و در نتیجه ظرفیت تنفسی بیماران CF را

www.takbook.com



کاهش می‌دهد. گزارش‌ها حاکی از آن است که مقدار DNA آزاد در خلط بیماران CF فراوان است، با عملکرد ضعیف ریه نشان می‌دهد که مانع راه هوایی به دلیل تجمع DNA NET است. علاوه بر این گزارش شده است که اجزای NET (یعنی نوتروفیل الاستاز (NE)، MPO، و هیستون‌ها) می‌توانند باعث تخریب بافت‌های اپیتلیال، اندوتلیال و همبند شوند و آسیب‌شناسی ریه را بیشتر بدتر کنند. اهمیت NET در اختلال CF با بینش‌هایی تضعیف می‌شود که نشان می‌دهد حذف DNA آزاد از مسیر هوایی بیمار یک درمان حیاتی برای مبارزه با بیماران CF ایجاد می‌کند زیرا تجویز DNase نوترکیب انسانی (rhDNase) تغییر قابل توجهی در سلامت بیمار ایجاد می‌کند.

علی‌رغم این واقعیت که NET مجموعه‌ای از سلاح‌ها را برای جدا کردن و آسیب رساندن به گسترش باکتری‌ها حمل می‌کند، آن‌ها در به دام انداختن بهتر از کشتن عمل می‌کنند. ایمنی با واسطه NET به پاک‌سازی مکانیکی از سطوح مخاطی بستگی دارد و در مواردی مانند CF، NET ممکن است باعث میکروکلونیزاسیون باکتری شود. به این معنا، استفاده از DNase I، هنگامی که باکتری‌ها در ریه‌ها مستقر شدند، مانند زمانی که خیلی زودتر تجویز می‌شود برای جلوگیری از کلونیزاسیون کافی نخواهد بود. روش دیگر، باید راه‌های جدیدی برای تنظیم نتوزیس برای مهار حضور پرکار DNA خارج سلولی و پاسخ‌های التهابی ناشی از آن کشف شود. درمان برای بیماران CF تجویز rhDNase برای برهم زدن ساختار NET و در نتیجه مایع شدن خلط و تسهیل پاک‌سازی موکوسی است.

## نقش آنتی میکروبی تله خارج سلولی در سیستیک فیبروزیس

NETها در طول تکامل به دلیل نقش ضد میکروبی خود حفظ شده‌اند. نوتروفیل‌های CFTR ظرفیت ضد میکروبی و تغییرات غیرطبیعی در pH سیتوپلاسم خود را مختل کرده، جابجایی نامنظم پروتئینی، عملکرد بیش از حد NE و میلوپراکسیداز (MPO) و کاهش غلظت هیپوکلریت در فاگولیزوزوم‌های خود دارند. علاوه بر این، نوتروفیل‌های بیماران CF آپوپتوز ذاتی کمتری دارند و بنابراین ممکن است احتمال بیشتری برای ایجاد NET داشته باشند. ماکروفاژهای CFTR دارای pH داخل فاگولیزوزومی بالا و گیرنده Toll نوع ۴ افزایش یافته بر روی غشای سطح سلولی خود هستند که به ترتیب ظرفیت ضد میکروبی آن‌ها را مهار می‌کند و آن‌ها به محرک‌های التهابی بیش از حد پاسخ می‌دهند.

www.takbook.com



با توجه به مطالعات انجام شده بر روی انسان، تشریح شد که NET دارای خواص ضد میکروبی است، اگرچه سویه‌های آزمایشگاهی و بالینی CF P. aer uginosa به شدت باعث ترشح NET می‌شوند، ایزوله‌های دیررس در راه‌های هوایی CF باعث انسداد در برابر NET می‌شوند. فوکس و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد که تنها ۲۵ درصد از نوتروفیل‌ها NET را برای کشتن استافیلوکوکوس اورئوس در شرایط آزمایشگاهی تشکیل می‌دهند. اکثر کشتار باکتری‌ها توسط فاگوسیتوز اتفاق می‌افتد. به نظر می‌رسد نتوزیس برای مقابله با میکروب‌های بزرگ، مانند هیف‌های قارچی، که برای فاگوسیتوز شدن بیش از حد بزرگ هستند، مناسب‌تر است. مارکوس و همکاران (۲۰۱۵) گزارش داد که NET در آزمایشات راه هوایی بیماران CF با کلونیزاسیون مسری آسپرژیلوس فومیگاتوس ارتباط دارد اما با آلودگی باکتریایی ارتباط ندارد. بنابراین در رابطه با CF فرض می‌شود که NET تنها می‌تواند نقش ضد میکروبی جزئی ایفا کند، زیرا صرف نظر از وجود تعداد زیادی نوتروفیل فعال شده و DNA خارج سلولی، بیماران از عفونت‌های فعلی دستگاه تنفسی تحتانی و کلونیزاسیون با ارگانیسم‌هایی مانند استافیلوکوکوس اورئوس رنج می‌برند. P.aeruginosa، و .A ضدعفونی می‌کند زیرا مکانیسم‌های دفاعی میزبان تحت تأثیر قرار می‌گیرد. از یک سو، نقش باکتریواستاتیک و باکتری‌کش خود را در گونه‌های درجه پایین به طور موثر ایفا می‌کنند، اما از سوی دیگر، به دلیل وجود یک سیستم ایمنی ذاتی سازگار، به عنوان اتوآنتی ژن‌های مضر در بیماری‌های خودایمنی انسان عمل می‌کنند.

## نقش پاتوفیزیولوژی تله خارج سلولی نوتروفیلی در سیستیک فیبروزیس

تشکیل NET می‌تواند توسط P.aeruginosa، یک پاتوژن اصلی در بیماری ریوی CF فعال باشد، و چندین مطالعه نشان داده‌اند که سطح NET در نمونه‌های راه هوایی بیماران CF در مقایسه با افراد سالم افزایش یافته و با عملکرد ضعیف ریه مرتبط است. DNase درمانی است که عمدتاً در بیماران بالغ CF انجام می‌شود و حدس زده می‌شود که DNA NET را هدف قرار می‌دهد. این یک درمان نبولیزه است که برای بهبود عملکرد ریه بیماران و کاهش میزان تشدید در بیماران اطفال و بزرگسالان استفاده می‌شود. این ظرفیت را دارد که DNA اضافی خارج سلولی را برای کاهش ضخامت خلط از بین ببرد و هم‌چنین التهاب راه هوایی را کاهش می‌دهد. این ساختمان DNA از NET سوبسترایی است که در آن چند پروتئین

www.takbook.com



پیش التهابی متعلق به این فرآیند مانند هیستون‌ها، NE، کالپروتکتین و BPI متصل می‌شوند.

## سرنوشت‌های دیگر نوتروفیل‌ها در سیستیک فیبروزیس ریوی

در حالت طبیعی در ریه، نوتروفیل‌ها با باکتری‌ها مواجه می‌شوند و فاگوسیتوز می‌کنند. به دنبال فاگوسیتوز، نوتروفیل‌ها به سرعت تحت آپوپتوز و پاک‌سازی توسط ماکروفاژها قرار می‌گیرند و در نتیجه رفع التهاب را بهبود می‌بخشند. از طرف دیگر، رشد بیش از حد باکتری در راه هوایی CF ممکن است منجر به تشکیل NET نوتروفیل‌ها علاوه بر فاگوسیتوز طبیعی شود. NET ممکن است به دفاع میزبان کمک کند، هم‌چنین اجازه می‌دهد تا اجزای سمی در راه هوایی آزاد شود که می‌تواند به ریه میزبان آسیب برساند. ما می‌توانیم فرض کنیم که NET به حل ناموفق التهاب در ریه CF کمک کند، و پاک‌سازی NET توسط ماکروفاژها ممکن است به اندازه پاک‌سازی نوتروفیل‌های آپوپتوز ضد التهابی نباشد.

## گزینه‌های درمانی مبتنی بر تله خارج سلولی نوتروفیلی در فیبروز سیستیک

وجود سطوح بالای DNA خارج سلولی مشخصه CF است. به طور سنتی DNA خارج سلولی از بقایای سلولی منشا می‌گیرد. یکی از انتخاب‌های علامت‌دار شناخته‌شده درمان برای CF، rhDNase I (rhDNAse/Pulmozyme/dornase alfa) برای پاک کردن مقادیر غیرعادی بالا DNA خارج سلولی موجود است. شواهد بالینی نشان می‌دهد که درمان با Dornase alfa در یک بازه زمانی محدود از ۱ تا ۲ سال می‌تواند منجر به بهبود متوسط عملکرد ریه شود. بسیاری از مقدمات آلفای Dornase شامل بیمارانی با محدوده سنی از کودکی تا بزرگسالی است. این امر ارزیابی این‌که آیا درمان خاصی وجود دارد که در آن rhDNase I برای بیماران بسیار مفید است، دشوار است. هم‌چنین نشان داده شده است که درمان با rhDNase Pulmozyme منجر به کاهش غلظت و طول DNA خارج سلولی در CF می‌شود. برخی از نویسندگان پیشنهاد می‌کنند که ارتباط پیچیده‌ای از DNA خارج سلولی، NE و MPO در خلط CF وجود دارد و حل شدن خلط بر اساس الاستاز تخلیه شده با NET است که هیستون‌های مرتبط با NET را به صورت پروتئولیتی هدف قرار می‌دهد. بارها و بارها نشان داده شده است که به احتمال زیاد اکثر DNA خارج سلولی مشتق از NET باشد، این نشان‌دهنده یک پاسخ ایمنی ذاتی تشدید شده است که نمی‌تواند باکتری کلونیزه را

www.takbook.com



هدف قرار دهد و در عین حال امکان ایجاد محیط التهابی را فراهم می‌کند که منجر به سازگاری بیماری باکتریایی می‌شود. این می‌تواند تا حدی به علت شناسی علائم CF کمک کند. همه این مطالعات به وضوح نشان می‌دهند که NET مسئول نگهداری باکتری‌ها است و از این پس، کلونیزاسیون باکتریایی را پیش می‌برد، جایی که درمان زودهنگام با rhDNAse ممکن است برای اجتناب از عوارض بیشتر ارزشمندتر باشد. بیماران CF اغلب با گونه‌های P.aeruginosa کلونیزه می‌شوند. گمان می‌رود که این به دلیل انتقال مخاطی ضعیف با توجه به بیماری مزمن میکروبی بدون پاک‌سازی مکانیکی اتفاق می‌افتد.

با بینش فعلی ما از بیولوژی NET، نگرانی‌هایی در رابطه با استفاده از DNase I وجود دارد، به ویژه به دلیل تمایل DNase I به تخلیه الاستاز ساکن NET، که متعاقباً هیستون‌ها را تخریب می‌کند. از آن‌جایی که هیستون‌ها بخشی از NET هستند که چسبندگی و جداسازی باکتری‌ها را تسهیل می‌کنند، کاهش هیستون ممکن است باعث کاهش جذب باکتری شود. اگر باکتری‌ها به اندازه کافی توسط NET از بین نرفتند، به دلیل درمان DNase I، ممکن است به انتشار میکروب‌های بیماری‌زا و تشدید عفونت، به میزان محدودی در بیماران CF کمک کند. یک رویکرد برای رسیدگی به این درهم تنیدگی استفاده از یک بازدارنده الاستاز در کنار DNase I است، روش دیگر کاهش روند نتوزیس با مهار یک مولکول بالادست است. روش‌ها و داروهای دیگری برای کاهش نتوزیس وجود دارد، به عنوان مثال، کلروکین، یک داروی ضد مالاریا که تولید NET را مهار می‌کند. مهارکننده‌های PAD4 به ترتیب نتوزیس را کاهش می‌دهند. یک راه بالقوه دیگر برای کنترل ترشح NET، گیرنده سطحی نوتروفیل Siglec 9 است.

NE با تخریب هیستون‌ها و تسهیل دسترسی به rhDNase، حل شدن خلط را افزایش می‌دهد. NET و آنزیم‌های تعدیل‌کننده آن‌ها مانند لیزوزیم و پروتئازها، پپتیدهای ضد میکروبی (پروتئین BPI و دفنسین‌ها)، سست کننده‌های یونی و هیستون‌ها می‌توانند پاتوژن‌ها را از بین ببرند. از سوی دیگر، الاستاز آزاد شده و هم‌چنین سایر اجزای NET پروتئولیتیک می‌توانند به بافت‌های ریه آسیب رسانده و با تعدیل عوامل التهابی، پاسخ ایمنی را تقویت‌کنند، به عنوان مثال، پروتئازهای فعال می‌توانند پروتئین سورفکتانت D (SP-D) را در طول عفونت بیماری‌زا تجزیه کنند. با این حال، NE در خلط CF عمدتاً به DNA متصل می‌شود، که فعالیت پروتئولیتیک آن را کاهش می‌دهد، اما از مهار مهارکننده‌های پروتئاز

www.takbook.com



برون‌زا نیز جلوگیری می‌کند. با توجه به مزایا و مشکلات ناشی از درمان موکولیتیک، معقول به نظر می‌رسد که یک درمان ترکیبی با مهارکننده‌های rhDNase و پروتئاز معرفی شود، که باید بهترین سازش را بین آسیب بافت ریه و حذف آسان موکوس ارائه دهد.

## نتوزیس در دیابت ملیتوس

دیابت ملیتوس (DM) مهم‌ترین بیماری متابولیک است که تهدیدی جهانی برای سلامت عمومی است. علائم آن مرگ زودرس، ناتوانی و چندین عارضه دیگر است. شیوع دیابت در کشورهای در حال توسعه و توسعه یافته که به وضعیت اپیدمی رسیده‌اند به طور پیوسته در حال افزایش است. پیشرفت این بیماری با ایجاد مشکلات عروقی مرتبط است، به عنوان مثال، رتینوپاتی، میکروآنژیوپاتی و ماکروآنژیوپاتی، که تأثیر نامطلوبی بر پیامد بالینی و هم‌چنین بدتر شدن کیفیت زندگی دارد. در مقایسه با جمعیت شاهد، خطر ابتلا به واسکولوپاتی در بیماران دیابتی ۲ تا ۴ برابر بیشتر است. با این حال، این واسکولوپاتی‌های ناشی از DM با دیابت نوع ۱ (T1DM) و دیابت نوع ۲ (T2DM) مرتبط هستند و ارتباط نزدیکی با هیپرگلیسمی مزمن ندارند که با هموگلوبین گلیکوزیله و تنوع گلیسمی نشان داده می‌شود. ایجاد واسکولوپاتی در دیابت با آترواسکلروز اولیه، سکته مغزی، آنژین ناپایدار/انفارکتوس میوکارد، کوری، ایسکمی پیشرفته اندام، نفروپاتی و عوارض ترومبوتیک همراه است. علاوه بر این، خطر مرگ ناشی از ناهنجاری‌های عروقی در بیماران دیابتی به طور چشم‌گیری افزایش می‌یابد، تا هشت برابر، در مقایسه با بیماران بدون هیچ یک از این عوارض. به خوبی ثابت شده است که واسکولوپاتی در DM منجر به عوارض مختلف دیگری مانند استرس اکسیداتیو بالا، اختلال در ترمیم عروق، اختلال عملکرد اندوتلیال، التهاب سیستمیک و میکروواسکولار، تسریع آترواسکلروز به دلیل نوسان هیپرگلیسمی و لیپوتوکسیسیتی قابل توجه می‌شود.

عامل مشترکی که باعث ایجاد واسکولوپاتی در انواع مختلف DM می‌شود، التهاب میکروواسکولار است که مربوط به ناهنجاری‌های متابولیک است و تحت کنترل شدید تنظیم ژنتیکی (اپی) و سلول‌های ارائه دهنده ایمنی/آنتی ژن است. هایپرگلیسمی، ناهنجاری‌های متابولیک، اجزای استرس اکسیداتیو (گونه‌های فعال اکسیژن، محصولات نهایی گلیکاسیون پیشرفته)، کموکاین‌ها، مولکول چسبندگی سلولی، هورمون‌ها (اندوتلین-۱، آلدوسترون،

www.takbook.com



آنژیوتانسین-۲) با نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها از طریق چندین مسیر بین سلولی تعامل دارند. پروتئین کینازهای فعال شده با MAPK، PI3K/Akt/eNOs/NF-kB و ERK1/2/p38، و زیرمجموعه‌های نوتروفیلی عمدتاً در عروق نه تنها از طریق سنتز و آزادسازی سیتوکین‌های پیش‌التهابی (TNF-α، IL-2,IL-8، آدیپونکتین، ویستافین) و با شکل دادن به NET باعث تحریک التهاب می‌شوند. علیرغم این‌که تضادهای قابل توجهی در شیوع واسکولوپاتی در انواع مختلف دیابت وجود دارد، هیپرگلیسمی و لیپوتوکسیسیته به عنوان عوامل اصلی کمک‌کننده به عوارض عروقی از طریق القای NET در نظر گرفته می‌شوند. NET به عنوان ارتباطی بین اندوتلیوم، تشدید و ترومبوز پیشنهاد شده است که برای بهبود واسکولوپاتی ناشی از DM ضروری است. توصیه شده است که تشکیل NET می‌تواند هدفی برای مراقبت از دیابت و هم‌چنین یک نشان‌گر زیستی برای طبقه‌بندی بیماران دیابتی باشد.

مطالعات قبلی نشان داده است که نوتروفیل‌های جدا شده از خون محیطی دیابتی‌ها نتوزیس و NET خود به خود را نشان می‌دهند. هیپرگلیسمی ظرفیت القای NET مرتبط با افزایش سطوح نشان‌گرهای گردشی نتوزیس از جمله DNA سلول آزاد، الاستاز، مونو و الیگونوکلئوزوم‌ها را نشان داد. در واقع سطوح پایه NET در بیماران مبتلا به دیابت T2 در مقایسه با داوطلبان سالم بالاتر بود و مربوط به هیپرگلیسمی ناشتا بود، کاهش وضعیت قند خون با متفورمین کاملاً با فعالیت سرکوب شده نتوزیس ناشی از TNF-α و PMA مرتبط نبود. بر اساس گزارشات، هیپرگلیسمی در ۶ ماه درمان با متفورمین کنترل شد، اگرچه سطح پایه و شکل تحریک شده نتوزیس در ۱۲ ماه مقادیر طبیعی همراه با نشان‌گرهای زیستی در گردش نتوزیس مانند IL-6، TNF-α، DNAهای بدون سلول را نشان داد. جوشی و همکاران (۲۰۱۶) تشکیل نتوزیس را در نوتروفیل‌های در معرض سطح بالای گلوکز، هموسیستئین و IL-6 گزارش کرده‌اند. وضعیت هیپرگلیسمی ارتباط نزدیکی با هموسیستئین دارد، اما هموسیستئین از طریق مکانیسم‌های اکسیداز وابسته به NADPH و مکانیسم‌های اکسیداز مستقل از گلوکز باعث ایجاد نتوزیس می‌شود. بنابراین پیشنهاد شده است که افزایش سطح نتوزیس در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو باعث اختلال در کنترل قند خون نمی‌شود، بلکه با التهاب مرتبط است. در این شرایط خاص، نتوزیس غیرمحدود و القایی در دیابت ممکن است با مسیرهای مولکولی مختلف مرتبط باشد.

www.takbook.com



## نتوزیس به شدت در بهبود زخم در دیابت اختلال ایجاد می‌کند

ترمیم زخم در دیابت غیرعملکردی است و در نتیجه میزان قابل توجهی از عوارض و مرگ و میر بالا می‌رود. نوتروفیل‌ها لکوسیت‌های اساسی هستند که با مرحله اولیه بهبودی مرتبط هستند. بیان پپتیدیل آرژینین دیمیناز ۴ (PAD4)، آنزیمی که در تراکم‌زدایی کروماتین مهم است و واسطه نتوزیس در افراد مبتلا به دیابت در مقایسه با افراد سالم کنترل می‌شود. در شرایط دیابتی، نوتروفیل‌ها سوپراکسید و سیتوکین بیشتری تولید می‌کنند. TNF-α، یک سایتوکین پیش التهابی که در نتوزیس دخیل است در افراد دیابتی افزایش می‌یابد. نشان‌گرهای زیستی مرتبط با NET در گردش، نوکلئوزوم‌ها، DNA دو رشته‌ای بدون سلول و NE در سرم افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ افزایش می‌یابد و نوکلئوزوم‌ها با سطح HbA1c این افراد همبستگی مثبت دارند. غلظت بالای NE می‌تواند باعث تخریب ماتریکس زخم و تاخیر در بهبودی شود. از آنجایی که PAD4 در پوست بیان نمی‌شود، تأثیر منفی آن بر بهبود زخم به احتمال زیاد به دلیل نفوذ نوتروفیل‌ها است. گونه‌های استافیلوکوکوس در زخم‌های دیابتی بسیار فراوان هستند و DNA NET را برای فرار از به دام افتادن تجزیه می‌کنند، بنابراین استفاده از نتوزیس برای دفاع در برابر میکروب‌ها ممکن است در طول بهبود زخم خیلی مؤثر نباشد. بهبود زخم می‌تواند به طور مشابه در افرادی با کاهش فعالیت DNase I تحت تاثیر قرار گیرد.

## درمان تله خارج سلولی آنتی نوتروفیلی در دیابت ملیتوس

DNase I می‌شکند NETها را تا بهبود زخم را افزایش دهد. این یک مهارکننده موثر PAD4 است که توسط نوتروفیل‌های فعال شده در افراد دیابتی بیش از حد تولید می‌شود. این می‌تواند یک رویکرد درمانی جدید برای ترمیم زخم در دیابت و هم‌چنین سایر بیماری‌ها مانند بیماران مبتلا به قند خون باشد. افزایش نتوزیس در دیابت نشان می‌دهد که ممکن است به این اختلالات دامن بزند و نتوزیس را مهار کند یا برش ممکن است آن‌ها را کاهش دهد. درمان با متفورمین غلظت اجزای NET را مستقل از کنترل گلوکز کاهش داد. این اثر در شرایط آزمایشگاهی قابل تکرار بود و مربوط به اثر مهاری متفورمین بر مسیر اکسیداز PKC NADPH بود. این اثر فارماکولوژیک متفورمین مهار کننده NET می‌تواند به طور بالقوه التهاب ایمنی را در دیابت بهبود بخشد.

www.takbook.com



## نتوزیس در بیماری قلبی متابولیک

اختلالات قلبی عروقی علت اصلی عوارض و مرگ و میر در بیماران دیابتی است. ماکروفاژهای فعال، که نقش آن‌ها در پاتوژنز آترواسکلروز و بیماری شریان محیطی به خوبی مشخص شده است، می‌تواند نتوزیس القایی نوتروفیل‌ها را در دیابت نوع دو حفظ کند و در نتیجه در تسریع آترواسکلروز کمک کند. محرک‌های مختلف دیگر، یعنی ایسکمی/هیپوکسی، لیپوپروتئین‌های اکسید شده، چربی‌های غیراشباع آزاد، سلول‌های نکروزه و هیستون‌های تغییریافته، ممکن است محرک‌هایی باشند که نوتروفیل‌ها NET را از طریق یک سیگنال خطر درون‌زا آزاد کنند، که قادر به فعال کردن فاکتور رونویسی پاسخ دهنده به استرس هستند. Nrf2، سنتز التهابی را با سیتوکین‌های پیش التهابی IL-1α و IL-1β تنظیم می‌کند. NETها اجزای ضروری پلاک‌ها هستند و احتمالاً به تولید اتوآنتی‌بادی‌هایی کمک می‌کنند که منجر به تشدید ضایعات آترواسکلروتیک عروق می‌شود. شواهدی وجود دارد که آترواسکلروز ممکن است با افزایش تشکیل NET در فعال‌سازی پلاک سلول‌های سرکوبگر مشتق از میلوئید چند هسته‌ای خون محیطی، اما نه مونوسیت‌ها/ماکروفاژهای التهابی، تقویت شده باشد. جالب است که Pertiwi و همکاران (۲۰۱۸)، به این نتیجه رسیده‌اند که نتوزیس می‌تواند یک بازیکن پیشرو ترومبوتیک در همه انواع متمایز آترواسکلروز و ترومبوز باشد، که پیشرفت عوارض عروقی و در نتیجه شروع سندرم‌های ایسکمیک شریان محیطی بالینی را تسهیل می‌کند. بنابراین مکانیسم‌های مولکولی مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی - آپوپتوز و نتوزیس، التهاب و تصلب شرایین را با ترویج تجمع فاکتورهای پیش‌آتروژنیک، ترومبوتیک و بقایای سلولی در گردش خون و در نتیجه به پیشرفت بیماری شریان محیطی کمک می‌کنند. تحقیقات بالینی نشان داده است که سطوح بالای dsDNA سرم به عنوان نشان‌گر نتوزیس با وجود بیماری قلبی عروقی (CV)، آترواسکلروز، نفروپاتی، بیماری شریان محیطی در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو مرتبط است. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد واسکولوپاتی ناشی از دیابت نوع دو که قبل از تجمع پلاک آترواسکلروتیک نشان داده شده و با اختلال عملکرد اندوتلیال همراه است، به وضوح با میکروووزیکول‌های حاوی کروماتین منشا سلول‌های اندوتلیال آپوپتوز مرتبط است که محرک‌های نتوزیس هستند. علاوه بر این، سطوح dsDNA بدون سلول به طور مثبت با شواهد مورفولوژیکی بی‌ثباتی پلاک، شدت بیماری شریان محیطی و خطر ایسکمی اندام و

www.takbook.com



هم‌چنین میزان مرگ و میر CV مرتبط است. نتوزیس در دیابت نوع دو احتمالاً می‌تواند به عنوان یک نشان‌گر زیستی برای افزایش خطر التهاب میکروواسکولار، اختلال عملکرد اندوتلیال، عوارض ترومبوتیک و آترواسکلروز عمل کند.

## افزایش پپتیدیل‌آرژینین دیمیناز ٤ و فعال‌سازی تله خارج سلولی نوتروفیلی در آترواسکلروز

اخیرا Warnatsch و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها برای پاسخ‌های پیش التهابی در پلاک‌های آترواسکلروتیک مهم هستند. این عمل با واسطه NET، شبکه‌های خارج سلولی DNA متصل به هیستون‌های سیتوتوکسیک، که توسط نوتروفیل‌های فعال آزاد می‌شوند، انجام می‌شود. فرآیند تشکیل NET از یک فرآیند هماهنگ چند مرحله‌ای پیروی می‌کند: سیترولیناسیون هیستون، تراکم‌زدایی کروماتین، مهاجرت الاستاز و سایر آنزیم‌های گرانول به هسته، تجزیه غشای هسته و آزادسازی DNA، هیستون‌ها و پروتئین‌های گرانول در فضای خارج سلولی. انتشار ماکروفاژهای NET اولیه برای تولید pro-IL-1β، که توسط کاسپاز ۱ به IL-1β پیش التهابی بالغ می‌شود. کاسپاز ۱ به نوبه خود توسط ماکروفاژها در پاسخ به فعال شدن NLRP3 (خانواده گیرنده NOD مانند) ترشح می‌شود (حاوی دامنه پیرین ۳ التهابی). NET هم‌چنین ترومبوتیک بوده. نوتروفیل‌های دیابتی نوع ۱ و ۲ انسانی و هم‌چنین موشی برای تولید NET آماده شده‌اند و بیان PAD4 را افزایش می‌دهند. افزایش رونویسی PAD4 توسط NFκB انجام می‌شود که به طور مزمن در دیابت فعال می‌شود. ROS ناشی از هیپرگلیسمی احتمالاً PAD4 را نیز با افزایش غلظت Ca21 داخل سلولی فعال می‌کند. سایر پیامدهای افزایش ROS داخل سلولی مانند فعال‌سازی PKC باعث افزایش سطح سیتوکین TNF-α همراه با NET می‌شود. رفع طبیعی التهاب ناشی از نفوذ نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها شامل تغییر سنتز پروستاگلاندین‌ها و لکوترین‌های مشتق از اسید آراشیدونیک برای سنتز لیپوکسین‌ها است که جذب نوتروفیل را متوقف می‌کند.

www.takbook.com



## درمان مبتنی بر نتوزیس

نشانه زیادی از پتانسیل درمان ضد NET در آترواسکلروز و بیماری قلبی متابولیک وجود ندارد. قبل از این‌که این درمان ها به بخشی از روش‌های پیشگیری اختلالات قلبی عروقی تبدیل شوند، مطالعاتی برای تعیین اینکه آیا درمان‌های ضد NET/ ضد التهابی می‌توانند پیامدهای قلبی عروقی را بهبود بخشند، ضروری است.

## نتوزیس در سرطان

سرطان هم‌چنان یکی از عوامل مخرب مرگ و میر در سراسر جهان است و اکثر بیماران در نتیجه متاستاز جان خود را از دست می‌دهند. داده‌های جدید نشان می‌دهد که عملکرد نوتروفیل در یک بیماری بدخیم تغییر یافته است. نوتروفیل‌ها ممکن است به محرک‌های برجسته بیماری تبدیل شوند و در طول پیشرفت تومور به رگ‌زایی و متاستاز کمک کنند. NET برای اولین بار چند سال پیش در افراد مبتلا به سرطان شناسایی شد و عواقب آن اخیرا در حال آشکار شدن است. بر اساس گزارش‌های متعدد، اکنون این باور قانع‌کننده است که سلول‌های ایمنی تأثیر عمده‌ای بر توسعه و پیشرفت سرطان دارند. نقش پلاکت‌ها و نوتروفیل‌ها به عنوان تنظیم‌کننده‌های مستقل فرآیندهای مختلف در سرطان برای مدت طولانی شناخته شده است، با این حال، مشخص شده است که تعامل نوتروفیل‌های پلاکتی هنوز یک جزء حیاتی است که باید در طول بیماری‌های بدخیم در نظر گرفته شود. گزارش شده است که نوتروفیل‌ها در موش‌های مبتلا به سرطان تمایل بیشتری به تشکیل ساختارهای NET مانند توسط کروماتین و پروتئازهای ترشح شده دارند. علاوه بر این، وجود NET در افراد مبتلا به سرطان در چند بررسی اخیر تایید شده است که نشان می‌دهد NET ناشی از تومور از نظر بالینی قابل استفاده است. چند گزارش هم‌چنین نشان داده‌اند که NET با ترویج فرآیندهای مسئول مرگ مرتبط با سرطان مانند ترومبوز، التهاب سیستمیک و عود بیماری، به آسیب‌شناسی مرتبط با سرطان کمک می‌کند. نشان داده شده است که پلاکت‌ها می‌توانند به عنوان القاءکننده نتوزیس داخل عروقی در پاسخ به لیپوپلی ساکارید (LPS) عمل کنند. برعکس، NET به دلیل وجود DNA خارجی و هیستون‌های مرتبط، سیگنال فعال‌سازی قوی برای پلاکت‌ها فراهم می‌کند و باعث تجمع پلاکت‌ها و ترومبوز می‌شود. رابط نوتروفیل پلاکتی می‌تواند جزء مهمی باشد که باید در طراحی

www.takbook.com



درمان‌هایی که آسیب‌شناسی مرتبط با سرطان در آینده را هدف قرار می‌دهند، در نظر گرفت.

بروز سرطان معمولاً با تظاهرات انواع سندرم‌های ترومبوتیک بالینی از جمله ترومبوزهای وریدی و شریانی موضعی و سیستمیک همراه است. در واقع ترومبوز اغلب با پیش آگهی بدتر بیماری نئوپلاستیک همراه است زیرا اغلب به عنوان اولین تظاهرات بالینی تومور تشخیص داده می‌شود. علیرغم تعداد زیادی از مطالعات اپیدمیولوژیک که میزان بروز، شیوع و درمان ترومبوز را در بیماران سرطانی بررسی می‌کنند، مکانیسم‌های اساسی پاتوژنز این فرآیند به طور کامل مشخص نشده است. افزایش مقدار لکوسیت پیش‌بینی‌کننده ترومبوز مرتبط با سرطان است. مطالعات اخیر نشان داده است که نوتروفیل‌ها نقش عمده‌ای در ایجاد ترومبوز شریانی و وریدی دارند. دخالت نوتروفیل‌ها در تشکیل ترومبوز وابسته به تشکیل NET است که به عنوان ساختارهای شبکه‌ای از DNA و پروتئین‌ها توصیف می‌شود که از طریق فرآیندی به نام نتوزیس تشکیل می‌شوند. سطح بار منفی NET باعث فعال شدن پروتئین‌های فاز تماس مانند FXII می‌شود. علاوه بر این، NET پلاکت‌ها را فعال می‌کند و ضد انعقاد داخلی داخلی را غیرفعال می‌کند. بنابراین، اختلال نتوزیس با واسطه DNase I، درمانی است که می‌تواند در متوقف کردن ترومبوز مورد استفاده قرار گیرد. به طور قابل توجهی، اگزوزوم های مشتق شده از سلول‌های تومور، تشکیل NET را در نوتروفیل‌ها از موش‌های تحت درمان با فاکتور تحریک‌کننده کلونی گرانولوسیت (G-CSF) القا می‌کنند و تشکیل ترومبوز وریدی را در موش‌های بدون نوتروفیل تسریع می‌کنند. مشاهدات ما نشان می‌دهد که نوتروفیل مرتبط با تومور و تمایل به تشکیل NET با افزایش سطح G-CSF همراه است. درمان با اگزوزوم‌های مشتق از تومور باعث تشکیل NET در نوتروفیل‌های موش‌های تحت درمان با G-CSF می‌شود و تشکیل ترومبوز وریدی را در موش‌های نوتروفیل بدون تومور تسریع می‌کند. پیشنهاد می‌شود که اگزوزوم‌های مشتق شده از تومور و نوتروفیل‌ها در ایجاد ترومبوز مرتبط با سرطان به صورت هم‌افزایی عمل کنند.

www.takbook.com



## عواقب تله خارج سلولی نوتروفیلی در سرطان

NET ناشی از تومور ممکن است یک القاکننده پاتولوژیک مرتبط با سرطان باشد. برای مثال کولز-لارتیگ و همکارانش (۲۰۱۳) نشان دادند که NET ناشی از عفونت به جداسازی سلول‌های تومور در گردش خون موش‌های مبتلا به سرطان به متاستاز کمک می‌کند. اگر بیماران سرطانی تحت تأثیر یک بیماری عفونی قرار گیرند، این نشان‌دهنده افزایش خطر متاستاز است. علاوه بر تأثیر مستقیم بر پیشرفت بدخیمی، نتوزیس ناشی از تومور علاوه بر این به اثرات پاتولوژیک سیستمیک سرطان کمک می‌کند. همان‌طور که نشان داده شده است که NET ترومبوز ورید عمقی مرتبط با سرطان را ترویج می‌کند، اثر پیش انعقاد NET در درجه اول از طریق DNA با بار منفی که مسیر ذاتی انعقاد را آغاز می‌کند و توسط هیستون‌هایی که در تشکیل ترومبین نقش دارند، واسطه می‌شود. TF و فاکتور XII، هر دو القاءکننده مسیرهای انعقادی بیرونی و درونی، به ترتیب در NET یافت می‌شوند.

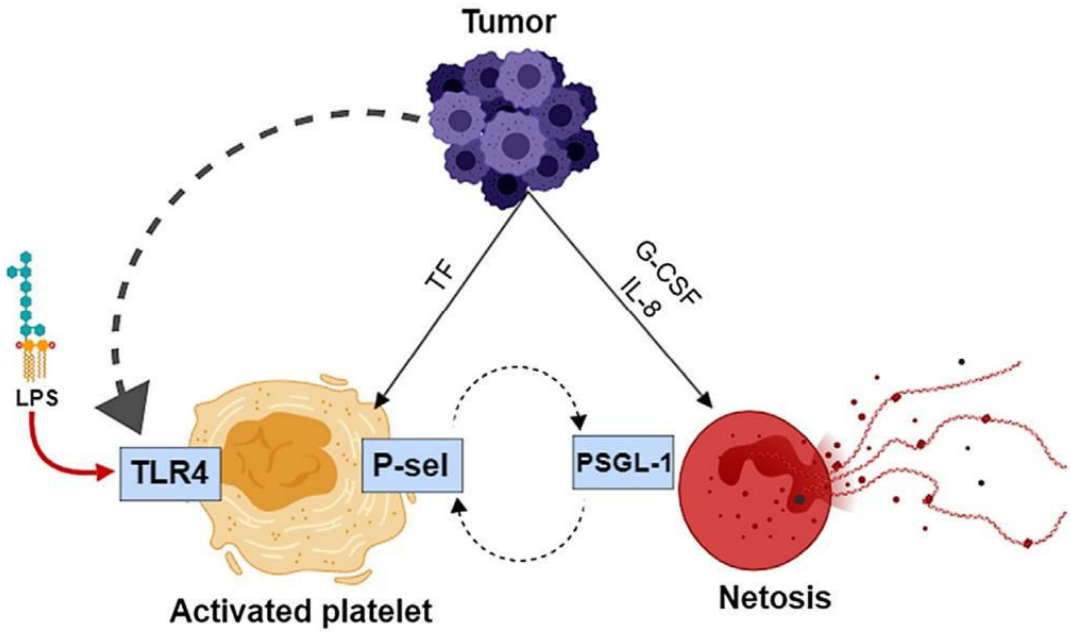
## هدف‌گیری درمانی تله خارج سلولی نوتروفیلی در افراد مبتلا به سرطان

نقش NETهای ناشی از تومور به عنوان محرک‌های بالقوه بدخیمی و عوارض مرتبط، مانند ترومبوز و التهاب سیستمیک، نشان می‌دهد که رویکردهای درمانی برای سرکوب NETها ممکن است برای بیماران سرطانی مفید باشد. چندین استراتژی بالقوه را می‌توان در نظر گرفت. استراتژی تخریب رشته‌های DNA خارج سلولی از طریق درمان با DNase I، گزینه‌ای برای تجزیه NET خواهد بود. همان‌طور که قبلاً گفته شد، مهارکننده‌های DNase I و PAD4 قبلاً برای درمان بیماران مبتلا به سیستیک فیبروزیس، دیابت ملیتوس و غیره شناخته شده‌اند، که نشان‌دهنده ایمنی آن‌ها به عنوان یک دارو است. علاوه بر این، سومین روش جایگزین، درمان با هپارین است که توانایی بی‌ثبات کردن NET را با استخراج هیستون‌ها دارد. هپارین دارای ظرفیت ضد انعقادی است که برای مدت طولانی به خوبی شناخته شده است و هم‌چنین به عنوان یک رویکرد درمانی نسبتاً موفق شناخته شده است. بر اساس اطلاعات فعلی، القای NET مرتبط با برهم‌کنش P– سلکتین (روی پلاکت‌های فعال)/ PSGL-1 (روی نوتروفیل‌ها) می‌تواند آن‌ها را به عنوان اهداف درمانی بالقوه معرفی کند (شکل ۶-۱). تحقیقات بیشتر برای بررسی کامل خطرات بالقوه ضروری بوده که مرتبط با رویکردهای درمانی است که NETها را هدف قرار می‌دهد. اطلاعات فعلی در مورد

www.takbook.com



NETهای ناشی از تومور قویاً نشان می‌دهد که هدف قرار دادن NETها می‌تواند برای بیماران سرطانی مفید باشد. NET که در ابتدا به عنوان یک مکانیسم دفاعی در برابر بیماری‌های عفونی شدید شناخته شد، به نظر می‌رسد که تأثیر منفی در طول بیماری‌های بدخیم با ترویج فرآیندهای مرگ‌بار مانند ترومبوز، التهاب سیستمیک و عود سرطان داشته باشد. با در نظر گرفتن این موضوع، NETها می‌توانند اهداف دارویی ضد سرطان آینده را با ظرفیت سرکوب فرآیندهایی که منجر به مرگ‌های مرتبط با سرطان می‌شوند، فراهم کند.




**شکل ۶-۱. تلاقی نوتروفیل پلاکتی در نتوزیس ناشی از تومور. سلول‌های تومور می‌توانند مستقیماً با ترشح عواملی مانند G-CSF و IL-8 باعث ایجاد نتوزیس شوند. ممکن است با تولید فاکتور بافتی (TF) باعث فعال شدن پلاکت‌ها شود. پلاکت‌های فعال به عنوان القا کننده نتوزیس عمل می‌کنند. این اثر از طریق اتصال مستقیم P- سلکتین به پلاکت‌های فعال شده و PSGL-1 روی نوتروفیل‌ها انجام می‌شود. تحریک پلاکت‌ها از طریق گیرنده Toll نوع ۴ (TLR4) توسط لیپوپلی ساکارید (LPS) در طول بیماری‌های عفونی یا عوامل ناشی از تومور ممکن است بیشتر به نتوزیس ناشی از پلاکت کمک کند.**

## تله خارج سلولی نوتروفیلی در بیماری آلزایمر

بیماری آلزایمر یک اختلال عصبی است که با زوال تدریجی عملکردهای شناختی مشخص می‌شود. آسیب‌شناسی عصبی آن با تجمع آمیلوئید بتا (Aβ)، ایجاد گره های عصبی فیبریلاری و از دست دادن نورون‌ها و سیناپس‌ها مشخص می‌شود. ویژگی‌های نوروپاتولوژیک اولیه آلزایمر شامل پلاک‌های عصبی تشکیل شده توسط رسوبات آمیلوئید بتا

www.takbook.com



(Aβ)، تجمع غیرطبیعی پروتئین تائو هیپرفسفریله شده در تنه عصبی، به‌عنوان درهم تنیدگی‌های نوروفیبریلاری (NFTs)، اختلال عملکرد سیناپسی و از دست دادن نورون است. علاوه بر این، آلزایمر هم‌چنین با آنژیوپاتی آمیلوئید مغزی به دلیل رسوبات آمیلوئیدی بتا در عروق مغزی مشخص می‌شود که باعث تنگی مجرا، آسیب اندوتلیال، ضخیم شدن غشای پایه، ترومبوز، از دست دادن خودتنظیمی و وازواسپاسم می‌شود. شواهد قویاً نشان می‌دهند که التهاب مربوط به آلزایمر در خون و مغز ایجاد می‌شود که هر دو دو بخش مرتبط با هم هستند. در این دیدگاه التهاب سیستمیک می‌تواند منجر به "فعال شدن مغز" شود، در حالی که التهاب مغزی ممکن است از طریق انتشار سیگنال‌های خطر و سایر مولکول‌های التهابی بر سیستم محیطی تأثیر بگذارد. اخیراً گزارش شده است که NET در عروق مغزی و پارانشیم مدل‌های آلزایمری حیوانی و افراد مبتلا به آلزایمر مشاهده شده است و پیشنهاد می‌کند که NET می‌تواند به طور بالقوه به سد خونی مغز (BBB) و سلول‌های عصبی آسیب برساند. در طول پاتوژنز چندین اختلال عصبی التهابی، یک فرآیند مرکزی که خود را نشان می‌دهد، جذب نوتروفیل‌ها از CNS است. از آنسفالیت باکتریایی و ویروسی تا شرایط غیرعفونی مانند ایسکمی مغزی، تروما و سندرم‌های دمیلینه کننده متغیر است. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که انتقال نوتروفیل‌ها در CNS یک فنوتیپ سمی به دست می‌آورد و به سلول‌های عصبی نزدیک می‌شود، جایی که مولکول‌های مضر را آزاد می‌کنند و می‌توانند عملکردهای عصبی را به خطر بیندازند. بنابراین محدود کردن مهاجرت و یا عملکرد نوتروفیل‌ها می‌تواند تأثیر مثبتی بر نتیجه آسیب‌های عصبی داشته باشد.

## دو نوع نتوزیس در بیماری آلزایمر: نتوزیس داخل عروقی و داخل پارانشیمی

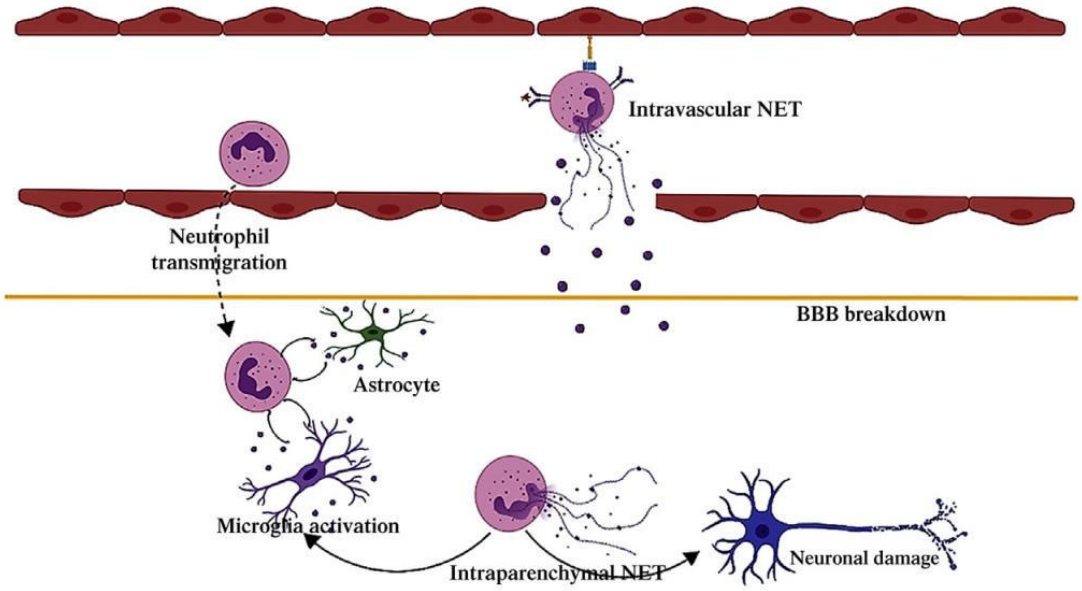
### نتوزیس داخل عروقی

NET داخل عروقی به سادگی به القای آن در یک رگ خونی یا سیستم عروق خونی اشاره دارد. انتشار NET داخل عروقی توسط نوتروفیل‌های چسبنده در چندین بیماری، از جمله سپسیس، آترواسکلروز، پاتولوژی‌های خودایمنی، مانند واسکولیت خودایمن عروق کوچک، ترومبوز ورید عمقی، آسیب حاد ریوی مرتبط با انتقال خون و سرطان مشاهده شده است. این می‌تواند توسط محرک‌های مختلف از جمله میکروب‌ها، کمپلکس‌های آنتی ژن آنتی بادی، سایتوکین های پیش التهابی و پلاکت‌های فعال تحریک شود (شکل ۶-۲). بر این

www.takbook.com



اساس، مطالعات آزمایشگاهی نشان می‌دهد که پپتیدهای Aβ می‌توانند نقش مهمی در فعال‌سازی اندوتلیال و چسبندگی نوتروفیل داخل عروقی در بیماری آلزایمر ایفا کنند. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که هر دو Aβ1- 42 الیگومری و فیبریلاری باعث چسبندگی سریع و وابسته به اینتگرین نوتروفیل‌های انسان و موش بر روی فیبرینوژن و ICAM-1، لیگاند برای LFA-1 اینتگرین می‌شوند. علاوه بر این، نشان داده شده است که Aβ1- 42 هر دو حالت میل ترکیبی متوسط و میل ترکیبی بالا LFA-1 را القا می‌کنند و به طور بالقوه سیگنال‌های توقف برای نوتروفیل‌ها را ارائه می‌دهند.




**شکل ۶-۲. انواع NETها در بیماری آلزایمر(AD). تله‌های خارج سلولی نوتروفیلی داخل عروقی (NETs) به طور بالقوه توسط درگیری پلاکت‌های فعال شده، احتمالاً از طریق اتصال نوتروفیل LFA-1 به پلاکت ICAM-2 ایجاد می‌شوند. DNA خارج سلولی و اجزایی مانند هیستون‌ها، میلوپراکسیداز (MPO)، نوتروفیل الاستاز و کاتپسین G که در طی تشکیل NET آزاد می‌شوند، تولید سیتوکین‌های پیش‌التهابی و ترومبین را القا می‌کنند و به تجزیه یکپارچگی سد خونی مغزی کمک می‌کنند. نوتروفیل‌های داخل پارانشیم مغز توسط واسطه‌های التهابی آزاد شده توسط سلول‌های گلیال فعال می‌شوند و NETها را تولید می‌کنند که ممکن است سلول‌های گلیال را بیشتر فعال کرده و به نورون‌های اطراف آسیب برسانند. NETها به آسیب بافت داخل عروقی و داخل پارانشیمی با واسطه نوتروفیل در بیماری آلزایمر کمک می‌کنند.**

علاوه بر این، مشخص شده است که چسبندگی نوتروفیل داخل عروقی و انتشار NET در مغز انسان تحت تاثیر بیماری آلزایمر، نشان می‌دهد که NET داخل عروقی نیز ممکن است به آسیب CNS در انسان کمک کند. عروق مغزی در افراد مبتلا به بیماری آلزایمر به شدت

www.takbook.com



فعال می‌شود و سیتوکین تولید می‌کند، که نشان می‌دهد سیتوکین‌های داخل عروقی ممکن است به شکل گیری NET در این زمینه کمک کنند. رگ‌های ریز مغز افراد آلزایمری سطوح بسیار بالاتری از ترومبین، TNF-α، IL-1β، و IL-8 را نسبت به گروه‌های کنترل همسان با سن آزاد می‌کنند، که نشان می‌دهد چنین مولکول‌های اندوتلیالی ممکن است تشکیل NET توسط نوتروفیل‌های چسبنده را افزایش دهند. ترومبین در مویرگ های مغزی افراد آلزایمری فراوان‌تر می‌شود و باعث آزادسازی IL-1β و IL-8 می‌شود که به نوبه خود ممکن است به نتوزیس داخل عروقی کمک کند. جالب توجه است، افراد با اختلال شناختی خفیف سطوح سرمی IL-1β بالاتری نسبت به افراد کنترل دارند، که نشان می‌دهد این سیتوکین ممکن است باعث آزاد شدن NET شود و در شروع بیماری آلزایمر نقش داشته باشد. بررسی‌های آزمایشگاهی سلول‌های اندوتلیال مغز نشان داده است که بیان ژن‌های سیتوکین از جمله IL-1β توسط پپتیدهای Aβ افزایش یافته است که باعث ایجاد نتوزیس می‌شود.

## نتوزیس داخل پارانشیمی

نوتروفیل‌ها به پارانشیم مغز مدل‌های موش آلزایمری در مراحل اولیه بیماری آلزایمر حمله می‌کنند و به القای نقص حافظه کمک می‌کنند. نوتروفیل‌هایی که به مناطق داخل پارانشیمی مهاجرت می‌کنند NET تولید می‌کنند، که نشان می‌دهد سلول‌های آزاد کننده MPO، NE و هیستون H3 سیترولینه در پارانشیم مدل‌های موش آلزایمری وجود دارند. در طول بیماری آلزایمر، سیتوکین‌های داخل پارانشیمی، مانند TNF-α، IL-1β، و IL-8، تولید شده توسط سلول‌های عصبی نیز ممکن است تشکیل NET را در نوتروفیل‌های خارج شده افزایش دهند. بر این اساس، آستروسیت‌ها و میکروگلیاهای فعال در بیماران مبتلا به بیماری آلزایمر سیتوکین‌های پیش‌التهابی مانند IL-1β، TNF-α و IL-8 و هم‌چنین ROS را دراطراف بافت مغز غنی از رسوبات Aβ ترشح می‌کنند، بنابراین به طور بالقوه در تشکیل NET داخل پارانشیمی و ایجاد تداخل با نوتروفیل‌های داخل پارانشیمی نقش دارند (شکل ۶-۲). مطالعات ایمونوهیستوشیمی نشان داده است که نوتروفیل‌ها به داخل نواحی پارانشیم حاوی پلاک‌های Aβ و فلورسانس نورونی کمتر مهاجرت می‌کنند، که نشان می‌دهد Aβ ممکن است در مهاجرت نوتروفیل‌ها به داخل پارانشیم و ارائه سیگنال‌های توقف برای نوتروفیل‌ها نقش داشته باشد. Aβ تولید ROS را با فعال کردن NADPH اکسیداز در شرایط

www.takbook.com



آزمایشگاهی در نوتروفیل‌های انسان و موش آغاز می‌کند و تولید ROS برای تشکیل NET بسیار مهم است. این داده‌ها از نقش Aβ در تشکیل NET داخل پارانشیمی و آسیب CNS وابسته به نوتروفیل در طول بیماری آلزایمر پشتیبانی می‌کنند. یافته‌های اخیر نشان می‌دهند که هر دو TNF-α و IL-1β در نتوزیس مرتبط با آرتریت روماتوئید و نقرس نقش دارند، که نشان می‌دهد این احتمال وجود دارد که آن‌ها در تشکیل NET در بیماران آلزایمری نیز نقش داشته باشند. علاوه بر این، درمان با آناکینرا (یک آنتاگونیست نوترکیب گیرنده IL-1) یا یک آنتی بادی مونوکلونال که IL-1β را مسدود می‌کند باعث مهار نسبی NET در نقرس شود. سطوح بالاتر IL-1β و TNF-α در مغز و مایع مغزی نخاعی (CSF) بیماران مبتلا به آلزایمر یافت می‌شود که نشان می‌دهد ممکن است در فعال شدن نوتروفیل و تشکیل NET در بیماری آلزایمر نقش داشته باشند. علاوه بر این، مطالعات اخیر نشان می‌دهد که IL-17 به نتوزیس در آرتریت روماتوئید و در مدلی از انفارکتوس حاد میوکارد کمک می‌کند، نشان می‌دهد که این سایتوکین ممکن است به تشکیل NET نیز در بیماری آلزایمر کمک کند. این داده‌های ترکیبی نشان می‌دهد که سیتوکین‌های پیش التهابی ممکن است در هماهنگی با Aβ و ROS برای ترویج نتوزیس داخل پارانشیمی در آلزایمرعمل کنند. در طول تولید NET، گرانول‌های آزوروفیل نوتروفیل‌ها، MMPs، به ویژه MMP-9، پروتئازهای سرین مانند NE، کاتپسین G و MPO را آزاد می‌کنند که می‌تواند باعث آسیب بافتی و تشدید فرآیند التهابی شود. MMPها در پروتئولیز ماتریکس خارج سلولی نقش دارند و بنابراین می‌توانند به پارانشیم مغز آسیب برسانند. NE می‌تواند با فعال کردن MMPها و غیرفعال کردن مهارکننده‌های بافت درون‌زا MMPs (TIMPs) تخریب بافت‌ها را القا کند. علاوه بر این، مهار MMP-9 که در پلاک‌های پیری، NET و دیواره‌های عروقی مغز فرد آلزایمری بیان می‌شود، ممکن است اهداف درمانی برای بیماران مبتلا به آلزایمر باشد.

## رویکردهای درمانی مبتنی بر تله خارج سلولی نوتروفیلی در بیماری آلزایمر

مهار نتوزیس در چندین مدل از بیماری‌های التهابی، از جمله بیماری‌های خودایمنی مؤثر بر مغز، مزایای درمانی به همراه داشته است. بنابراین هدف‌گیری NET ممکن است پاتوژنز بیماری آلزایمر را به تاخیر بیندازد و یک رویکرد جدید برای درمان آن ارائه دهد. با این حال، اثر مسدود کردن NET در مدل‌های حیوانی آلزایمری هنوز نشان داده نشده است و مطالعات بیشتری برای تعیین این‌که آیا این رویکرد شایستگی دارد یا خیر، مورد نیاز است.

www.takbook.com



مهار انتقال نوتروفیل نیز ممکن است در بیماری آلزایمر مفید باشد. در نتیجه NET نشان‌دهنده یک رویکرد جدید در بیماری آلزایمر است و هدف قرار دادن اثرات آن‌ها در طول التهاب استریل ممکن است یک استراتژی درمانی اضافی برای درمان این بیماری ویرانگر ارائه دهد.

## نتوزیس در نقرس

نقرس یک بیماری مزمن است که با رسوب کریستال‌های اورات مونوسدیم (MSU) مشخص می‌شود که ناشی از افزایش غلظت اورات است. در سطوح بالاتر اسید اوریک متبلور می‌شود و کریستال‌ها در مفاصل، تاندون‌ها و بافت‌های اطراف رسوب می‌کنند و در نتیجه حمله نقرس ایجاد می‌شود. هر دو عامل محیطی مانند هیپراوریسمی، دفع کلیوی و ترشح اورات روده و عوامل ژنتیکی نقش مهمی در تنظیم اورات سرم دارند. انتشار اینترلوکین β۱ نقش کلیدی در شروع بیماری نقرس دارد. نقرس یک شکل رایج و قابل درمان آرتریت التهابی است و بیشتر در افرادی که به طور منظم گوشت می‌خورند یا اضافه وزن دارند، رخ می‌دهد. تشخیص نقرس ممکن است با وجود کریستال‌ها در مایعات یا در رسوبات خارج از مفصل تایید شود. ویژگی‌های بالینی نتیجه نقرس به دلیل پاسخ التهابی به کریستال‌های MSU و استراتژی‌های درمانی که به انحلال کریستال می‌رسند، در مدیریت مؤثر نقرس نقش اساسی دارند. در چند سال اخیر، پیشرفت‌های عمده‌ای در درک پاتوژنز، تأثیر، رویکردهای تشخیصی و درمان این اختلال حاصل شده است.

## ایمونولوژی پاسخ التهابی حاد در نقرس

تعداد کمی از افراد با رسوبات درون مفصلی کریستال‌های MSU، یک پاسخ التهابی حاد ایجاد می‌کنند، زیرا نقرس حاد هنگامی که کریستال‌های MSU با ماکروفاژهای ساکن تعامل می‌کنند و التهاب "NOD-، LRR- و دامنه پیرین حاوی ۳" (NLRP3) را تشکیل می‌دهند و فعال می‌کنند. این فرآیند با کولوکالیزاسیون فضایی مبتنی بر میکروتوبول با میتوکندری تسهیل می‌شود، که شامل استیلاسیون α– توبولین توسط کاسپاز ۱ التهابی فعال می‌شود که پرو- اینترلوکین β۱ را به اینترلوکین β۱ بالغ تبدیل می‌کند. نوتروفیل‌ها و ماست سل‌های فعال شده پاسخ التهابی را تقویت می‌کنند و منجر به آزاد شدن میزبانی از سیتوکین‌های

www.takbook.com



پیش التهابی، کموکاین‌ها و سایر عوامل مانند گونه‌های فعال اکسیژن، پروستاگلاندین E2 و آنزیم‌های لیزوزومی می‌شود. فاز رفع التهاب حاد نقرس و القای سیتوکین‌های ضد التهابی و واسطه‌های لیپیدی توسط ساختارهای NET تجمعی واسطه می‌شود.

## کریستال‌های MSU از طریق یک مسیر مولکولی مجزا باعث ایجاد تله خارج سلولی نوتروفیلی می‌شوند

MSU و سایر کریستال‌های فیزیولوژیکی مرتبط، NET را از طریق یک مسیر مولکولی القا می‌کنند. روی هم، دو فاز مولکولی ضروری را می‌توان در نقرس تشخیص داد. مرحله اول رسوب کریستال‌های MSU و بلع آن‌ها توسط فاگوسیت‌های تک هسته‌ای است که منجر به فعال شدن التهاب می‌شود. این فرآیند مولکولی که به تولید IL-1β بستگی دارد و با جذب گسترده نوتروفیل‌ها مشخص می‌شود، علائم بالینی حمله حاد نقرس را توضیح می‌دهد. فاز دوم تشکیل توفوس (سنگ آهکی) شبیه NET تجمع یافته است که به تراکم بالای نوتروفیل‌ها و مرگ آن‌ها در اثر تشکیل NET بستگی دارد. دفع یا ریزش DNA در طول NET به طور متراکم بسته‌بندی کریستال‌های MSU و تشکیل NET تجمع یافته، سیتوکین‌های پیش التهابی درگیر را خنثی و تخریب می‌کند و التهاب را برطرف می‌کند (شکل ۶-۳). این فرآیند مولکولی مکانیسم و تصویر بالینی نقرس توفاس مزمن را توضیح می‌دهد.

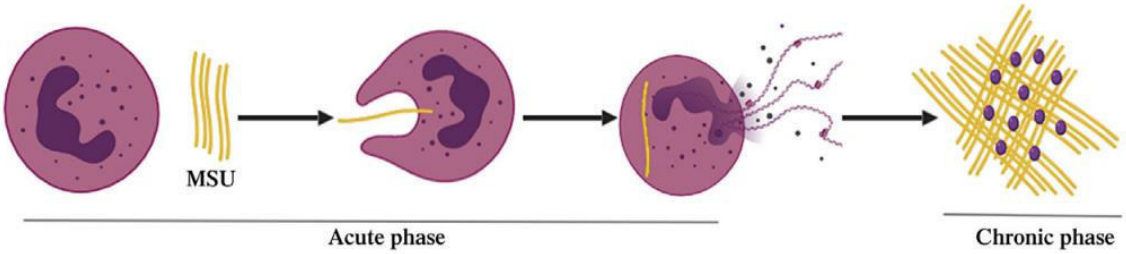
## نقرس کاذب و القای نکروپتوز

رسوب کریستال‌های حاوی کلسیم، دی هیدرات کلسیم پیروفسفات (CPP) و کریستال‌های پایه کلسیم فسفات (BCP) در مفاصل و یا بافت‌های نرم می‌تواند منجر به انواع اختلالات مفصلی و اطراف مفصلی شود. تظاهرات بالینی رسوب کریستال CPP به عنوان نقرس کاذب شناخته می‌شود. تشکیل NET قوی از نوتروفیل‌های انسانی در شرایط آزمایشگاهی در پاسخ به کریستال‌های CPPD مشاهده شده است. در واقع کریستال‌های CPPD محرک بسیار قوی تری برای القای NET توسط PMNs نسبت به کریستال‌های MSU و PMNs فاگوسیتوز کریستال‌های CPPD برای انتشار NET با کریستال CPPD اجباری هستند. کریستال‌های CPP هم‌چنین یک شکل تنظیم شده از نکروز (به نام نکروپتوز) در

www.takbook.com



فیبروبلاست ها، سلول‌های اپیتلیال و نوتروفیل‌ها را القا می‌کنند. همان‌طور که در فصل قبل بحث شد، نکروپتوز با تشکیل NET همراه است. این فرآیند مستقل از فعال‌سازی کاسپاز رخ می‌دهد و احتمالاً آسیب بافتی را از طریق انتشار الگوهای مولکولی مرتبط با آسیب (DAMP) تشدید می‌کند. سرین/ترئونین - پروتئین کیناز ۱ (RIPK1)، RIPK3 و پروتئین شبیه به دامنه کیناز دودمان ترکیبی (MLKL) با تعامل گیرنده، عملکردهای مهمی در نکروپتوز دارند و در جریان تولید ROS ناشی از کریستال فعال می‌شوند.




**شکل ۶-۳. القای NET از طریق کریستال‌های: MSU فاز حاد: جذب کریستال‌های اورات مونوسدیم (MSU) توسط فاگوسیتوز نوتروفیل منجر به آزاد شدن مواد شیمیایی جذب کننده و القای نتوزیس می‌شود. فاز مزمن: بیرون راندن DNA در طول تله خارج سلولی نوتروفیلی(NET)، کریستال‌های MSU را به صورت متراکم بسته بندی می‌کند که منجر به تشکیل NETهای انباشته می‌شود و پروتئازهای متصل، سیتوکین‌های پیش التهابی درگیر را خنثی و تخریب می‌کنند و در نتیجه التهاب را برطرف می‌کنند.**

## اهداف درمانی مبتنی بر تله خارج سلولی نوتروفیلی در نقرس

نشان داده شده است که مهار RIPK1 یا MLKL با نکروزاتین ۱ و نکروسولفونامید از مرگ سلولی ناشی از کریستال CPP و انتشار NET مرتبط جلوگیری می‌کند. از این رو، محور RIPK1-RIPK3-MLKL ممکن است یک هدف درمانی بالقوه برای محدود کردن آسیب بافتی مرتبط با نکروپتوز و التهاب در بیماری حاد CPPD باشد. پروفیلاکسی ضد التهابی کنونی نقرس محدود است و به دلیل مسمومیت‌های دارویی بالقوه، تداخلات دارو - دارو و اثربخشی درمانی ناکافی، کامل نیست. برای پیش‌گیری و درمان نقرس نیاز اساسی به گزینه‌های درمانی ضد التهابی جدید و مؤثر وجود دارد. توسعه درمان‌های جدید برای نقرس می‌تواند مبتنی بر فرآیندهای میزبان اخیراً شناسایی‌شده باشد که التهاب ناشی از کریستال MSU را تنظیم می‌کند. نتوزیس و فعال‌سازی نوتروفیل به عنوان یک محرک اصلی و یک جزء حل کننده در التهاب نقرس عمل می‌کند، زیرا شامل چندین مکانیسم حل بومی مبتنی

www.takbook.com



بر فاگوسیت برای التهاب حاد نوتروفیل است. این مسیرها شامل مصرف فاگوسیتیک نوتروفیل‌های آپوپتوز می‌شود که منجر به تغییر مشخصات واسطه‌های التهابی و ضدالتهابی آزاد شده توسط سلول‌های موثر و نتوزیس می‌شود که هم‌چنین ممکن است باعث رشد توفوس شود. کاندیدهای جدیدی برای سرکوب التهاب نقرس می‌توانند از مدولاسیون هدف قرار دادن سازند NET پدیدار شوند.

## نتوزیس در پانکراتیت

پانکراتیت حاد (AP) به التهاب لوزالمعده اشاره دارد و به طور معمول یک بیماری خفیف است، با این حال، حدود ۲۰٪ از بیماران به بیماری نسبتاً شدید یا شدید مبتلا می‌شوند. AP نسبتاً شدید با اختلال عملکرد اندام (OD) و مرگ و میر بسیار کم مشخص می‌شود در حالی که در AP شدید، OD پایدار است و مرگ و میر بالا تا ۷۰٪ گزارش شده است. مطالعات نشان داده‌اند که هیدراتاسیون تهاجمی داخل وریدی زودهنگام میزان عوارض و مرگ و میر را کاهش می‌دهد. علاوه بر این، بیمارانی که در معرض خطر ابتلا به AP شدید هستند، به ویژه آن‌هایی که بدون OD مراجعه می‌کنند، ممکن است از درمان تعدیل کننده ایمنی بهره‌مند شوند. حدود نیمی از بیماران AP مبتلا به OD علائم بالینی OD را در هنگام مراجعه ندارند. سلول‌های آسینار پانکراس آسیب دیده یا در حال مرگ، محتویات درون سلولی از جمله DAMPهای هسته‌ای، مانند DNA و هیستون‌ها را آزاد می‌کنند که باعث تجمع سلول‌های ایمنی ذاتی در پانکراس و تولید سیتوکین‌ها، در میان سایر واسطه‌های محلول التهاب می‌شود. پیشنهاد شده است که تشکیل NET برای تشکیل یک سد گذرا بین بافت‌های نکروزه در طول فرآیندهای التهابی حاد عمل می‌کند. NET در پاسخ به بقایای نکروزه شکل می‌گیرد و پاک‌سازی الگوهای مولکولی مرتبط با آسیب (DAMPs) را با اتصال آن‌ها به NET تسهیل می‌کند. سپس DAMPهای بالقوه مضر در NET از طریق هضم پروتئولیتیک تجزیه می‌شوند. سپس DNA خارج سلولی و پروتئین‌های مرتبط با کروماتین نقش مهمی در انعقاد و تشکیل لخته‌های فیبرین در سطح NET ایفا می‌کنند. نتوزیس فراوان اطراف نواحی نکروزه در دو مورد بالینی پانکراتیت و پریتونیت مشاهده شده است.

در پانکراتیت حاد نکروزان، نکروز بافتی عظیم در داخل و اطراف لوزالمعده رخ می‌دهد که منجر به جمع‌آوری مایع به صورت کیست کاذب می‌شود. برخلاف کیست‌های معمولی، این

www.takbook.com



کیست‌های کاذب توسط لایه‌های اپیتلیال احاطه نشده‌اند. حدس زده می‌شود که نواحی نکروزه مشاهده شده در پانکراتیت نکروزان از بافت‌های سالم اطراف توسط NET تجمع یافته جدا می‌شوند. این‌ها یک سد جایگزین و کوتاه مدت ایجاد می‌کنند که نواحی نکروزه را از بافت زنده جدا می‌کند. در چندین نواحی مبتلا به نکروز پانکراس، NETها توسط ایمونوهیستوشیمی شناسایی شدند و کروماتین برای NE و هیستون H3 سیترولینه شده مثبت رنگ‌آمیزی شد. یک لایه فشرده از NET تجمع یافته، محل نکروز را جدا می‌کند، در نتیجه گسترش واسطه‌های پیش التهابی مرتبط با نکروز را محدود می‌کند. عواقب طولانی مدت NET فراوان اطراف نواحی التهابی باید در نظر گرفته شود، زیرا سطوح قابل توجهی از محصولات هضم پروتئولیتیک در شبه کیست های پانکراس دیده می‌شود و سلول‌های در حال مرگ در تعدیل پاسخ ایمنی نقش دارند.

## گزینه‌های درمانی مبتنی بر تله خارج سلولی نوتروفیلی در پانکراتیت

توانایی NETها در شروع بالقوه پانکراتیت امکان مداخله درمانی را برای جلوگیری از فعال شدن بیش از حد نوتروفیل‌ها به عنوان یک گزینه درمانی فراهم می‌کند. فهرستی از مولکول‌های دارای پتانسیل درمانی در جدول ۶-۱ خلاصه شده است.

جدول ۶-۱. فهرستی از مولکول‌های دارای پتانسیل درمانی.

| اثر روی بیماری/ استفاده بالینی | اثرات روی نوتروفیل‌ها | هدف | مولکول | بیماری |
|---|---|---|---|---|
| بهبود عملکرد ریوی و کاهش سرعت تخریب/ محافظت از ریه اما کاهش بار نوتروفیلی و افزایش دفاع میزبان توسط کمپلمان، رسپتورهای کمپلمان و تولید موضعی مولکول‌های میکروبی و ضد التهابی | • دژنراسیون NET<br>• تنظیم NET | • DNA خارج سلولی اضافی<br>• تنظیم‌کننده فعالیت الاستاز نوتروفیلی | Dnase1<br>(rhDnase/pulmozyme/ dornase alfa)<br>مهارکننده پروتئاز | سیستیک فیبروزیس |
| التیام زخم | شکست NET | مهار PAD4 | Dnase1 | دیابت ملیتوس |
| پاتوژنز مرتبط با NET | فعالیت نوتروفیل‌ها | هیستون دآمینازها (محتویات NET) | مهارکننده PAD4 | بیماری قلبی متابولیک |
| جلوگیری از گسترش تومور و ترومبوز مرتبط با سرطان | مهار NET | مهار PAD4 | DNase یا مهارکنندگان PAD4 | سرطان |
| پاتوژنز بیماری و اختلال شناختی | • فعالیت نوتروفیلی، تشکیل NET داخل پارانشیمی<br>• انسداد انتقال | • فعال‌سازی NADPH اکسیداز<br>• LFA<br>• اینتگرین | IL-1β و TNF-α<br>Anti LFA-1<br>اینتگرین | بیماری آلزایمر |

www.takbook.com

| اثر روی بیماری/ استفاده بالینی | اثرات روی نوتروفیل‌ها | هدف | مولکول | بیماری |
|---|---|---|---|---|
| | نوتروفیلی | | | |
| • استفاده شده در مدیریت حملات نقرسی<br>• انسداد IL-1β موجب مهار جزئی در تشکیل NET می‌شود. | • عدم ثبات NET ها یا مهار تشکیل NET.<br>• القا دژنراسیون NET<br>• مهار NET | سیتواسکلتون اکتین<br>بلاک IL-1β | کلشی سین<br>آنتاگونیست نوترکیب رسپتور IL-1 (آناکینرا) | نقرس |
| | القا NET | کاهش انفیلتراسیون نوتروفیل‌ها | DNase1 | پانکراتیت |

www.takbook.com

www.takbook.com



## نتوزیس در بیماری‌های عفونی

NETها حاوی طیف وسیعی از عوامل ضد میکروبی هستند که میکروب‌ها را از بین می‌برند. فرآیند نتوزیس در برابر انواع گونه‌های مختلف باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، قارچ‌ها، ویروس‌ها و انگل‌ها مؤثر بوده و از رشد آن‌ها جلوگیری می‌کند.

## بیماری‌های باکتریایی

نشان داده شده است که انواع باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت باعث ایجاد NET می‌شوند. تهاجم باکتریایی باعث ایجاد NET می‌شود که پاتوژن‌ها را به دام می اندازد و از گسترش آن‌ها جلوگیری می‌کند. استافیلوکوکوس اورئوس یک باکتری گرم مثبت است و در استئومیلیت، اندوکاردیت، باکتریمی و گاستروانتریت نقش دارد که با پاسخ التهابی شدید همراه است. این دارو باعث ایجاد نتوزیس می‌شود و با ترشح فاکتورهای بیماریزای متعدد، مانند PVL، لوکوتوکسین GH، لکوتوکسین DE، گاما همولیزین و پپتیدهای N ترمینال دی آرژنین، از سیستم ایمنی میزبان فرار می‌کند. عفونت با استرپتوکوک پنومونیه منجر به پنومونی اکتسابی از جامعه و بیماری‌های تهاجمی‌مانند مننژیت و باکتریمی می‌شود. این یک باکتری گرم مثبت است که نقش برجسته‌ای در القای NET و ترویج گسترش باکتری‌ها از دستگاه تنفسی فوقانی به ریه‌ها و در نهایت به جریان خون دارد. علاوه بر این، NET هم‌چنین با سایر بیماری‌های تنفسی ناشی از عفونت‌های ثانویه مانند بیماری انسدادی مزمن ریه، پنومونی و آمفیزم مرتبط است. اشریشیا کلی، یک باکتری گرم منفی که در بدو تولد در دستگاه گوارش ساکن است، در آنتریت، عفونت‌های ادراری، مننژیت و سپسیس نقش دارد. P.aeruginosa در بیماری سیستیک فیبروزیس دخالت دارد که قبلاً در این فصل مورد بحث قرار گرفته است. E.coli و P.aeruginosa با فعال کردن NADPH اکسیداز ۲ (Nox) نتوزیس خودکشی وابسته به NOX را القا می‌کنند، که متعاقبا ROS برای القای NET تولید می‌کند.

گاستروانتریت توسط سالمونلا تیفی موریوم، یک باکتری گرم منفی شناخته شده برای تحریک نتوزیس ایجاد می‌شود. علاوه بر به دام انداختن و کشتن باکتری‌ها، اجزای فعال تله‌های خارج سلولی می‌توانند عوامل بیماری‌زای را خنثی کنند. مایکوباکتریوم توبرکلوزیس، یک باکتری درون سلولی است که قادر است با موفقیت از سیستم ایمنی میزبان فرار کند و

www.takbook.com



عفونت نهفته را ایجاد کند. درحالی‌که NETها میکوباکتریوم توبرکلوزیس را به دام انداختند، باکتری‌ها از بین نرفتند، اما شواهدی وجود دارد که بر اهمیت نوتروفیل‌ها در مهار عفونت تأکید می‌کند و نشان می‌دهد که NETها ممکن است از نظر فیزیکی مایکوباکتریوم توبرکلوزیس را محدود کنند. این فرضیه نیاز به بررسی بیشتر در مدل‌های حیوانی و مطالعات انسانی دارد.

## بیماری‌های قارچی

نوتروفیل‌ها نقش مهمی در مهار عفونت‌های قارچی ایفا می‌کنند و به نظر می‌رسد NETها بخش مهمی ازعوامل ضد قارچی نوتروفیل هستند. کاندیدا آلبیکنس در افراد مبتلا به نقص ایمنی، مانند بیماران مبتلا به پانکراتیت یا نارسایی کلیوی، بیماران تحت درمان آنتی بیوتیکی یا با کاتتر ورید مرکزی و در بیمارانی که پس از جراحی گوارشی هستند، باعث بیماری می‌شود. نوتروفیل‌ها می‌توانند C.albicans را به شکل مخمر یا هیف با آزاد کردن NET به دام بیاندازند و از بین ببرند. کریپتوکوکوز و مننگوآنسفالیت ناشی از مخمر بیماری‌زا، کریپتوکوکوس نئوفورمانس، دارای پلی ساکارید کپسولی است که به آن توانایی تنظیم سیستم ایمنی میزبان را می‌دهد و قادر به تعدیل تولید NET است. بیماری گرانولوماتوز مزمن (CGD)، یک اختلال ارثی NADPH اکسیداز، با عفونت‌های باکتریایی و قارچی مکرر و تهدید کننده زندگی مشخص می‌شود. دارای بالاترین عفونت‌های تهاجمی آسپرژیلوزیس توسط A.fumigatus، بخشی از میکروبیوتای انسانی است که القای NETها را از طریق فعال‌سازی NOX تحریک می‌کند. بیماران CGD در بیان NADPH اکسیداز کمبود دارند و قادر به تشکیل NET نیستند و به دلیل عفونت آسپرژیلوس نیدولانس می‌میرند. Bianchi و همکاران، ۲۰۰۹ نشان داده‌اند که A.nidulans conidia را می‌توان با کمک NETها از بین برد.

## بیماری‌های انگلی

مطالعات نقش بالقوه NETها را در پاسخ ایمنی در برابر انگل‌های تک یاخته ای گزارش کرده‌اند. عامل بیماری مالاریا پلاسمودیوم فالسی پاروم است که باعث تولید سیتوکین‌های التهابی توسط گلبول‌های قرمز آلوده می‌شود. تهاجم انگل‌ها توسط پروتئین‌های بیان شده بر

www.takbook.com



روی گلبول‌های قرمز آلوده که چسبندگی آن‌ها را به اندوتلیوم عروقی در بافت‌ها و اندام‌ها افزایش می‌دهد، تسهیل می‌شود. وجود NETها و تشکیل آنتی‌بادی‌های ضد هسته‌ای ممکن است به بیماری در توسعه فنوتیپ‌های خود ایمنی کمک کند. نقش NETها در انگل‌های عامل لیشمانیوز نیز مورد بررسی قرار گرفته است. انگل‌های لیشمانیا عوامل القا کننده انواع عفونت‌های لیشمانیوز هستند که بسته به گونه، فنوتیپ آن می‌تواند از ضایعات جلدی و زیر جلدی تا لیشمانیوز احشایی بالقوه کشنده (کالاآزار) باشد. بسته به گونه، برخی از انگل‌های لیشمانیوز توسط NET از بین می‌روند، در حالی که برخی استراتژی‌هایی را برای فرار از فعالیت ضد میکروبی NET ایجاد کرده‌اند، به عنوان مثال، در انسان، لیشمانیا آمازوننسیس می‌تواند باعث تشکیل NET و کشته شدن توسط آن‌ها شود، در مقابل، لیشمانیا اینفانتوم و لیشمانیا دونوانی، انگل‌ها توسط NETها کشته نمی‌شوند. نتوزیس هم‌چنین در عفونت توکسوپلاسما گوندی، که در نتیجه مصرف غذای آلوده رخ می‌دهد، دخیل است. عفونت انگلی جذب نوتروفیل‌ها را به محل‌های آلوده تحریک می‌کند و باعث ایجاد NETها از نوتروفیل‌های انسان و موش می‌شود. گیر افتادن انگل در NETها منجر به کاهش قابلیت حیات انگل می‌شود. تشکیل NET عفونت توکسوپلاسما را با اثرات میکروب‌کشی مستقیم و با تداخل در تهاجم انگل به سلول‌های میزبان هدف بررسی می‌کند.

## بیماری‌های ویروسی

چندین گزارش بررسی کرده‌اند که NETها در عفونت‌های ویروسی مانند ویروس نقص ایمنی انسانی (HIV-1)، ویروس دنگی (تب استخوان شکن)، ویروس آنفولانزا A و ویروس سنسیشیال تنفسی نقش دارند. HIV-1 یک ویروس تهدیدکننده زندگی است که به سیستم ایمنی حمله می‌کند. NET می‌تواند ویریون‌های HIV با بار منفی را ضبط و غیرفعال کند و به طور قابل توجهی فعالیت عفونت HIV را کاهش دهد. MPO و α - دفنسین‌ها پروتئین‌های ضد ویروسی مرتبط با ساختار NET هستند و ممکن است به به دام انداختن و از بین بردن HIV کمک کنند. HIV دارای یک مکانیسم فرار ایمنی است که باعث تولید IL-10 توسط دندریتیک سل‌ها می‌شود و بنابراین از تولید ROS و تشکیل NET جلوگیری می‌کند. در سال‌های اخیر، بروز عفونت دنگی در سراسر جهان افزایش یافته است. ویروس دنگی یک ویروس RNA تک رشته‌ای است که دارای چندین سروتیپ دنگی با اثراتی از تب خفیف تا تب شدید است. گزارش شده است که سروتیپ ۲ ویروس دنگی با اختلال در جذب

www.takbook.com



گلوکز با واسطه Glut-1، که یک نیاز متابولیکی برای آزادسازی NET است، از تشکیل NET جلوگیری می‌کند. ذات الریه ناشی از H.influenzae یک ویروس کشنده است که به دلیل مرگ میلیون‌ها نفر در سراسر جهان شناخته شده است. مشخصه آن جذب بیش از حد نوتروفیل‌ها به ریه‌ها با کمک CXCR2 است. هم‌چنین تشکیل NET با واسطه PAD4 را تحریک می‌کند. α - دفنسین یک مرتبط با NET ها با مسدود کردن مسیر PKC، تکثیر ویروس را مهار می‌کند.

عفونت اطفال مانند برونشیت حاد، ادم مخاطی و زیر مخاطی و انسداد مجرا ناشی از ویروس سنسیشیال تنفسی (RSV) است. NET توسط این ویروس تحریک شده اما قادر به کشتن آن نیست. پروتئین RSV F تشکیل NET را از طریق مسیر TLR4 القا می‌کند. علیرغم اینکه این NETها به عنوان مخازن ویروسی عمل می‌کنند، وجود آن ها ممکن است علائم التهابی را تشدید کند و باعث انسداد مجرا با ساختارهای متشکل از موکوس و DNA شود. در نتیجه NETها در برابر انواع میکروب‌ها موثر هستند، اما ممکن است در برابر پاتوژن‌هایی که در برابر فاگوسیتوز مقاوم هستند، حیاتی باشند. این به عنوان یک مکانیسم کلیدی در به دام انداختن میکروبی برای جلوگیری از انتشار میکروبی ظاهر می‌شود. با این حال، به نظر می‌رسد اختلال در تشکیل و پاک‌سازی NET اثرات منفی بر سلامتی دارد.

## تشکیل تله خارج سلولی نوتروفیلی در شرایط آزمایشگاهی: تکنیک‌های اندازه‌گیری

در سال‌های اخیر روش‌های مختلفی مانند فلوسایتومتری و هیستوشیمی برای ارزیابی NET پدید آمده است. روش فلوسیتومتری NET از یک رنگ متصل شونده به DNA غیرقابل نفوذ غشای پلاسمایی به نام SYTOX Green استفاده می‌کند که می‌تواند سلول‌های چند هسته‌ای خون محیطی انسان را که توسط القاء کننده NET، فوربول ۱۲- میریستات ۱۳- استات (PMA) در معرض قرار گرفته‌اند، شناسایی کند. دی‌فنیل نیودونیوم یک مهارکننده NET است که می‌تواند به طور قابل توجهی تعداد سلول‌های سبز مثبت SYTOX القا شده توسط PMA را کاهش دهد. بنابراین پیشنهاد شد که سلول‌های سبز مثبت SYTOX شامل نوتروفیل‌هایی هستند که NET را تشکیل می‌دهند. این روش می‌تواند نوتروفیل‌هایی را که تحت نتوزیس قرار می‌گیرند شناسایی کند، اما نمی‌تواند برای آپوپتوز اولیه مفید باشد. برای

www.takbook.com



ارزیابی NET، رایج ترین روش مشاهده میکروسکوپی است، روشی قابل اعتماد، که مبتنی بر تأیید کلوکالیزه شدن DNA خارج سلولی و پروتئین‌های مشتق از نوتروفیل، از جمله MPO و NE است، در عینیت و کمیت خطا دارد. این برای ارزیابی کمی کاربرد دارد، اما باید از دیدگاه های ذهنی در مورد نتایج اجتناب شود. باقیمانده‌های NET محلول در نمونه‌های مایع، مانند سرم و رویی کشت سلولی، برای مقدار NET نیز بررسی شده‌اند. DNA بدون سلول را می‌توان به صورت عینی و کمی با استفاده از Picogreen شناسایی کرد. روش دیگر، سنجش ایمونوسوربنت متصل به آنزیم (ELISA) است که می‌تواند کمپلکس‌های DNA و پروتئین‌های مشتق از نوتروفیل، از جمله MPO و NE را شناسایی کند. علاوه بر این، گاهی اوقات بقایای NET محلول تشکیل NET را در داخل بدن به طور دقیق منعکس نمی‌کنند زیرا تخریب NET توسط DNase I سرم در برخی از بیماران مبتلا به SLE و AAV اختلال دارد. گاویلت و همکاران (۲۰۱۵)، نوتروفیل‌هایی را که تحت نتوزیس قرار گرفتند با شناسایی MPO و هیستون‌های سیترولینه با استفاده از فلوسیتومتری شناسایی کردند. ژائو، فوگ و کاپلان (۲۰۱۵)، فلوسیتومتری تصویربرداری چند طیفی را انجام دادند که عمدتاً می‌تواند تغییر ناحیه هسته‌ای و شدت فلورسنت ناشی از NET را تشخیص دهد. اگرچه این‌ها روش‌های کمی و عینی هستند، اما پروتکل های آن‌ها پیچیده به نظر می‌رسد. برای مطالعه NET از روش ساده‌تر، عینی و کمی برای تشخیص نوتروفیل‌هایی که NET را تشکیل می‌دهند استفاده می‌شود.

www.takbook.com

www.takbook.com

# لیست اختصارات

www.takbook.com



| | |
|---|---|
| **µm** | micrometer |
| **A1AT** | alpha 1-antitrypsin |
| **AA** | adjuvant-induced arthritis |
| **AAV** | ANCA-associated vasculitis |
| **ACPAs** | anticitrullinated protein antibodies |
| **ADP** | adenosine diphosphate |
| **AggNETs** | aggregated NETs |
| **AMP** | antimicrobial peptide |
| **ANAs** | antinuclear autoantibodies |
| **ANCA** | antineutrophil cytoplasmic antibodies |
| **Apaf1** | apoptotic protease activating factor |
| **APCs** | antigen presenting cells |
| **ATG7** | autophagy-related protein 7 |
| **ATP** | adenosine triphosphate |
| **AVOs** | acidic vesicular organelles |
| **AZU1** | azurocidin 1 |
| **BAFF** | B cell activating factor |
| **BCP** | basic calcium phosphate |
| **BET** | basophil extracellular traps |
| **BLM** | belimumab |
| **BPI** | bactericidal permeability increasing protein |
| **CAD** | caspase-activated DNase |
| **CARM1** | coactivator associated arginine methyltransferase 1 |
| **CCR5** | C–C chemokine receptor type 5 |
| **CD** | Crohn's disease |
| **CD4** | cluster of differentiation 4 |
| **CDK** | cyclin dependent kinases |
| **cfDNA** | cell free DNA |
| **CFTR** | cystic fibrosis transmembrane regulator |
| **CGD** | chronic granulomatous disease |
| **CitH3** | histone citrullination |
| **CNS** | central nervous system |
| **COPD** | chronic obstructive pulmonary disease |
| **CPPD** | calcium pyrophosphate dehydrate crystals |
| **CR3** | complement receptor 3 |
| **CRISSP** | cancer associated SCM recognition, immune defense suppression and serine protease protection peptide |
| **CTSC** | cathepsin C |

www.takbook.com



| | |
|---|---|
| **CXCR** | C-X-C motif chemokine receptor |
| **DAMP** | damage-associated molecular patterns |
| **DCs** | dendritic cells |
| **DENV** | dengue virus |
| **DISC** | death-inducing signaling complex |
| **DN** | double negative |
| **DPI** | diphenylene iodonium |
| **dsDNA** | double stranded DNA |
| **EBNA** | Epstein–Barr nuclear antigen |
| **ECP** | eosinophil cationic protein |
| **EET** | eosinophil extracellular traps |
| **ELANE** | elastase, neutrophil-expressed |
| **ELISA** | enzyme linked immunosorbent assay |
| **ELS** | ectopic lymphoid structures |
| **ER** | endoplasmic reticulum |
| **ERK** | extracellular-signal-regulated kinase |
| **FADD** | Fas-associated protein with death domain |
| **FCγRI** | Fc gamma receptor 1 |
| **FDC** | follicular dendritic cells |
| **fMLP** | formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine |
| **Fn** | fibronectin |
| **FPR** | formyl-peptide receptors |
| **G-CSF** | granulocyte colony-stimulating factor |
| **GC** | germinal center |
| **GDP** | guanosine diphosphate |
| **GEFs** | guanine nucleotide exchange factors |
| **GM-CSF** | granulocyte/macrophage colony-stimulating factor |
| **GSDMD** | gasdermin D |
| **GTP** | guanosine triphosphate |
| **GXM** | glucuronoxylomannan |
| **H3R26** | histone h3 arginine26 |
| **$HCO_3$** | bicarbonate |
| **HEVs** | high endothelial venules |
| **HIF** | hypoxia-inducible factor |
| **HIV 1** | human immunodeficiency virus 1 |
| **HLA-Dr** | human leukocyte antigen—Dr isotype |
| **HMGB 1** | high mobility group box 1 |
| **HNP** | human neutrophil peptide |
| **HOCl** | hypochlorous acid |
| **HSP** | heat shock protein |
| **HUVEC** | human umbilical vein endothelial cells |
| **IFN** | interferon |
| **Ig** | immunoglobulin |
| **IL** | interleukin |
| **IRAK** | IL-1 receptor-associated kinase |
| **IRS** | insulin receptor substrate |
| **JAK** | Janus kinase |

www.takbook.com



| | |
|---|---|
| **LC** | light chain |
| **LCP1** | lymphocyte cytosolic protein 1 |
| **LDGs** | low density granulocytes |
| **LFA 1** | lymphocyte function associated antigen 1 |
| **LPS** | lipopolysaccharide |
| **Luk GH** | leukotoxin GH |
| **MAC** | membrane attack complex |
| **MAPK** | microtubule associated protein kinase |
| **MBP** | major basic protein |
| **MCET** | mast cell extracellular traps |
| **MEK** | MAPK/ERK kinase |
| **mitoROS** | mitochondrial reactive oxygen species |
| **MLKL** | mixed lineage kinase domain like protein |
| **MMPs** | matrix metalloproteases |
| **MODS** | multiple organ dysfunction syndrome |
| **MPO** | myeloperoxidase |
| **MROS** | mitochondrial reactive oxygen species |
| **Ms** | multiple sclerosis |
| **MSU** | monosodium urate |
| **mtDNA** | mitochondrial DNA |
| **mTOR** | mammalian target of rapamycin |
| **MYH9** | myosin 9 |
| **Myo1C** | myosin 1C |
| **NA** | not applicable |
| **NaCl** | sodium chloride |
| **NADPH** | nicotinamide adenine dinucleotide phosphate hydrolase |
| **ND** | not determined |
| **NE** | neutrophil elastase |
| **NEC** | necrotizing enterocolitis |
| **NET** | neutrophil extracellular trap |
| **NF** | nuclear factor |
| **NF κB** | nuclear factor kappa B |
| **NLR** | NOD-like receptors |
| **NLRP3** | NOD, LRR, and pyrin domain containing 3 |
| **nm** | nanometer |
| **nNIF** | neonatal NET inhibitory factor |
| **NO** | nitric oxide |
| **NOD** | nucleotide binding and oligomerization domain |
| **NOX** | NADPH oxidase |
| **NPs** | nanoparticles |
| **NRPs** | net related peptides |
| **NZM** | New Zealand mixed 2328 (model of murine lupus) |
| **$O_2$** | oxygen |
| **OD** | organ dysfunction |
| **OLFM4** | olfactomedin 4 |
| **PAD** | peptidyl arginine deiminase |
| **PAF** | platelet activating factor |
| **Paks** | P-21 activated kinases |
| **PAMP** | pathogen-associated molecular patterns |

www.takbook.com



| | |
|---|---|
| **PDCs** | plasma dendritic cells |
| **$pH_e$** | extracellular pH |
| **$pH_i$** | intracellular pH |
| **PHOX** | phagocytic oxidase |
| **PI3K** | phosphoinositide 3-kinase |
| **PKC** | protein kinase C |
| **PMA** | phorbol-12 myristate13-acetate |
| **PMNs** | polymorphonuclear neutrophils |
| **PR** | proteinase |
| **PRMT1** | protein arginine methyltransferase 1 |
| **PRR** | pattern-recognizing receptors |
| **PSGL 1** | P-selectin glycoprotein ligand 1 |
| **PTPN22** | protein tyrosin phospatase |
| **PVL** | Panton–Valentine leucocidin |
| **RA** | rheumatoid arthritis |
| **Raf** | rapidly accelerated fibrosarcoma |
| **RAGE** | receptor for advanced glycation end products |
| **rhDNase** | recombinant human DNase |
| **RIPK** | receptor interacting serine/threonine protein kinase |
| **ROS** | reactive oxygen species |
| **RRMS** | relapsing remitting multiple sclerosis |
| **RSV** | respiratory syncytial virus |
| **RTX** | rituximab |
| **SCM** | squamous cell metaplasia |
| **SEs** | shared epitopes |
| **SIRL1** | signal inhibitory receptor on leukocytes 1 |
| **SK3** | small conductance calcium-activated potassium channel protein 3 |
| **SLE** | systemic lupus erythematosus |
| **SMA** | small urate microaggregates |
| **SNP** | single nucleotide polymorphisms |
| **SOD** | superoxide dismutase |
| **SS** | Sjögren's syndrome |
| **T2DM** | type 2 diabetes mellitus |
| **TCZ** | tocilizumab |
| **TF** | tissue factor |
| **THAM** | tris hydroxymethyl aminomethane, tromethamine |
| **THP** | Tamm–Horsfall protein |
| **TIMPs** | tissue inhibitors of metalloproteinases |
| **TLR** | toll like receptor |
| **TNF** | tumor necrosis factor |
| **TNFR** | tumor necrosis factor receptor |
| **TP** | triptolide |
| **TRALI** | transfusion-related acute lung injury |
| **TUNEL** | terminal deoxynucleotidyl transferase |
| **UC** | ulcerative colitis |
| **UV** | ultraviolet |

www.takbook.com

# Netosis

## Immunity, Pathogenesis And Therapeutics

**Translated by:**
Nadia Abedi Omali
Parvin Ramian
Faegheh Bahri
Soroush Taherkhani

9786220850779
ارشد آن

نتوزیس ایمنی، پاتوژنز و درمان

نویسنده: گیتا رای