Xianghui Xiao
Dr. med.

Inflammasomenexpression in peripheren Monozyten, Granulozyten und Lymphozyten von Patienten mit abdominalem Aortenaneurysma (AAA)

Promotionsfach: Chirurgie

Doktormutter: Prof. Dr. rer. nat. Susanne Dihlmann

Das Abdominelle Aortenaneurysma (AAA) ist eine potenziell lebensbedrohliche Gefäßerkrankung mit einer Erweiterung der abdominellen Aorta. Es wurde gezeigt, dass die Entwicklung von AAA komplizierte Mechanismen umfasst. Dabei handelt es sich um Bildung von intraluminalem Thrombus, die Akkumulation von Immunzellen und die adventitiale Antwort. Hierbei spielen die Immunzellen eine wichtige Rolle beim Abbau der Adventitia. Aktuelle Studien zeigten, dass erhöhte Aktivierungen von AIM2 und NLRP3 in Immunzellen die Entwicklung der vaskulärer Störungen fördern. Aber der Mechanismus verschiedener Immunzellen, die auf die Inflammasomen bei der AAA-Entwicklung hinweisen, bliebt jedoch weiterhin unklar. Die vorliegende Studie zielte darauf ab, die AIM2-, NLRP3- und ASC-Expression in verschiedenen peripheren Leukozyten von AAA-Patienten im Vergleich zu Kontrollpatienten aufzuklären.

In dieser Fall-Kontroll-Studie wurden 149 periphere Blutproben von AAA-Patienten und Nicht-AAA-Patienten nach schriftlicher Einwilligung entnommen. Gemäß den Einschluss- und Ausschlusskriterien für Fallgruppe und Kontrollgruppe. 25 Blutproben von AAA-Patienten und 31 aus Nicht-AAA-Proben wurde mittels Durchflusszytometrie auf die Inflammasomexpression in verschiedenen Immunzellen untersucht. Vollblut wurde durch Flusszytometrie zur Analyse der Koexpression von inflammatorischen Sensorproteinen (AIM2, NLRP3, ASC) und Immunphenotyp (CD14, CD19, CD3) untersucht, um die mittlere Fluoreszenzintensität (MFI) dieser Proteine in Granulozyten, Monozyten, T-Zellen und B-Zellen zu messen.

Zur weiteren Analyse wurden die PBMC aus 28 AAA-Proben und 42 Nicht-AAA-Proben verwendet, um die Aktivität des AIM2 Inflammasoms durch Stimulation in vitro mit synthetischer DNA (poly-dA:dT) zu untersuchen. Parallel

dazu wurden PBMC aus 25 AAA-Proben und 42 Nicht-AAA-Proben in vitro mit Lipopolysaccharid (LPS) stimuliert, um die Aktivität von NLRP3 zu untersuchen. IL-1β wurde von PBMC-Überständen nach den Übernachtstimulationen der PBMC mit entweder synthetischer DNA zur Induktion der AIM2-Bildung oder mit LPS zur Induktion der NLRP3-Bildung abgeleitet und anschließend quantifiziert.

In dieser Studie wurde beobachtet, dass die AIM2-Menge in Leukoczten von AAA-Patienten signifikant erhöht war im Vergleich zu Kontrollen in Granulozyten (MFI MedianAAA = 1309 gegenüber MFI $Median_{kontrolle}$ = 920, P = 0,026), in Monozyten (MFI $Median_{AAA}$ = 668 gegenüber MFI $Median_{Kontrolle}$ = 458, P = 0,007), in T-Lymphozyten (MFI $Median_{AAA}$ = 343 gegenüber MFI $Median_{Kontrolle}$ = 225, P = 0,004) und in B-Lymphozyten (MFI $Median_{AAA}$ = 297 gegenüber MFI $Median_{Kontrolle}$ = 143, P <0,0001). Im Gegensatz dazu zeigte die NLRP3-Menge in Leukozyten keine Unterschiede zwischen AAA-Patienten und Kontrollen in Granulozyten (P = 0,773), Monozyten (P = 0,581), T-Zellen (P = 0,902) und B-Zellen (P = 0,201). Ähnlich wie bei NLRP3 zeigte die ASC-Menge in Leukozyten keine Unterschiede zwischen AAA-Patienten und Kontrollen in Granulozyten (P = 0,650), Monozyten (P = 0,674), T-Zellen (P = 0,650) und B-Zellen (P = 0,504).

Darüber hinaus zeigte die Analyse der poly-dA:dT induzierten IL-1β-Konzentrationen von reagierenden Proben in Zellüberständen signifikant erhöhte aktive IL-1β Spiegel (n = 15, mittlerer IL-$1\beta_{AAA}$ = 17,86 pg / ml) im Vergleich zu dem von Nicht-AAA-Patienten abgeleitete PBMC (n = 23, mittlere IL-1β-Kontrolle = 4,8 pg / ml) (P = 0,022). Im Gegensatz zur Poly-dA: dT-Stimulation zeigten die mit LPS induzierten IL-1β-Konzentrationen keinen Unterschied (medianer IL-1βAAA = 1230.0pg / ml) Kontrollgruppe (n = 36) (P = 0,575), wenn nicht reagierende Proben ausgeschlossen wurden.

Die Daten zeigen, dass die erhöhte AIM2-Expression in allen peripheren Leukozytentypen der AAA-Patienten auftritt. Dies weist auf eine Beteiligung dieses Proteins an der Immunantwort auf freigesetzte DNA während der Pathogenese des AAA hin. Bestätigt wird dies durch den Nachweis einer erhöhten Freisetzung von IL-1b als Antwort der peripheren Leukozyten auf eine Stimulation mit DNA, nicht jedoch anderen Inflammasom-aktivatoren (z.B. LPS).