

# POTENȚIALI MARKERI ÎN EVALUAREA RINITELOR ALERGICE

## *Potential markers for allergic rhinitis evaluation*

Adina Zamfir-Chiru-Anton<sup>1</sup>, Dan-Cristian Gheorghe<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii „Grigore Alexandrescu“, București

<sup>2</sup>Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii „M.S. Curie“, București

*Notă. Autorii au avut o contribuție egală la realizarea articolului.*

### REZUMAT

Rinitele alergice se caracterizează prin inflamația permanentă a mucoasei nazale în contact cu alergeni specifici. Acest lucru este explicat printr-un mecanism imunologic – o reacție de hipersensibilitate de tip I, prin care se generează o reacție inflamatorie puternică cu acumulare de celule inflamatorii (eozinofile, bazofile, celule Th, mastocite) la nivelul epiteliului nazal.

Metaloproteinazele sunt enzime implicate în degradarea matricii extracelulare și a membranei bazale, precum și în modularea răspunsului imun.

Articolul, un review, are ca obiect evidențierea rolului metaloproteinazelor în modificările suferite de mucoasa nazală prin inflamația cronică descrisă în rinitele alergice (fibroză, subțierea membranelor nazale, modificarea epiteliului cu apariția zonelor de metaplasie, edem, infiltrat inflamator cu eozinofile și bazofile).

**Cuvinte cheie:** rinită alergică, metaloproteinaze matriceale, mastocite, eozinofile

### ABSTRACT

Allergic rhinitis is the result of a permanent/intermittent inflammation of the nasal mucosa, exposed to certain allergens. An immunological reaction is the fundamental cause – a type I hypersensitivity reaction, followed by local inflammatory response and immune cell pooling (eosinophiles, basophiles, Th cells, mast cells) in the nasal mucosa.

Matrix metalloproteinases are tissue proteases that degrade extracellular matrix and basilar membrane and modulate immune responses.

Our article reviews the part metalloproteinases play in the changes suffered by the nasal mucosa in chronic allergic rhinitis (fibrosis, metaplasia, edema, inflammatory cell infiltration).

**Keywords:** allergic rhinitis, matrix metalloproteinases, mast cells, eosinophils

Rinita alergică este o reacție anormală a pituitării nazale la contactul său cu molecule denumite alergeni și care declanșează un răspuns imun excesiv. Se poate încadra într-o predispoziție generală a organismului. (1) În cadrul ei se pot provoca leziuni tisulare prin reacții de hipersensibilitate de tip I (antigenul-alergenul determină activarea limfocitelor T helper 2 – Th2 – și astfel se generează producerea de anticorpi IgE). Ig E se fixează pe receptori situați la nivelul mastocitelor de la nivelul

mucoaselor sau țesutului conjunctiv, unde persistă mai multe luni. La contactul repetat al alergenuului cu mucoasa, antigenul omolog se fixează pe fragmentul Fab al IgE de pe mastocite. Complexele antigen-anticorp astfel formate duc la eliberarea unor substanțe biologice active ce acționează la nivelul terminațiilor nervoase (prostaglandine, leucotriene, factor de necroză tumorală, histamină, serotonină) și determină contracția musculaturii netede, creșterea permeabilității vasculare cu edem

Adresa de corespondență:

Dr. Adina Zamfir-Chiru-Anton, Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii „Grigore Alexandrescu“, Bd. Iancu de Hunedoara nr. 30-32, sector 1, București

E-mail: zamfiradina@yahoo.com

sau hipersecreție de mucus. (2) În atacurile repetate de hipersensibilitate imediată, apare o fază tardivă în care citokinele, alte molecule eliberate în urma degranulării mastocitare, preț de câteva ore, atrag la locul reacției inflamatorii eozinofile și bazofile, rezultatul concretizându-se în distrucții tisulare, edem, ulterior fibroză.

Mobilizarea și recrutarea celulelor inflamatorii presupun extravazarea lor de la nivel endovascular în țesuturi și implică mecanisme de degradare a matricei extracelulare, proces realizat în principal de către metaloproteinele matriceale (mecanisme ce vor fi detaliate mai jos).

Membrana bazală este alcătuită dintr-o matrice extracelulară (colagen de tip IV, de tip VII, laminină, fibronectină și heparinsulfat) și molecule de adeziune celulară. Colagenul de tip IV reprezintă un element major al membranelor bazale, dar are și rol în migrarea celulară alături de colagenul de tip V și elastină. În cursul reacției alergice, membrana bazală a endoteliului vascular este degradată pentru a permite extravazarea de celule inflamatorii circulante (eozinofile și bazofile). Se constată îngustarea membranei bazale epiteliale, cu dezepitelizare și apariția unor zone de metaplasie epitelială. Aceste modificări patologice sunt generate de către metaloproteinele, enzime proteolitice prin degradarea colagenului (IV, V, VII, X, XI), elastinei, proteoglicanilor, entacinei, fibronectinei, lamininei etc. Alte mecanisme prin care metaloproteinele sunt implicate în remodelarea tisulară sunt reprezentate de creșterea permeabilității vasculare (generând edem), dar și de stimularea migrării celulare (eozinofilelor și bazofilelor) la locul inflamației.

În studiul mecanismelor patogene ale alergiei, un rol esențial îl au metaloproteinele, iar, dintre acestea, o atenție deosebită o acordăm gelatinazelor. Această categorie, în forma sa activă de metaloproteine, este formată din doi membri:

1. Gelatinaza A sau MMP-2 având o greutate moleculară de 72 kDa ca pro-enzimă și de 62 kDa;
2. Gelatinaza B sau MMP-9 având o greutate moleculară de 92 kDa ca proenzimă și de 82 kDa în forma activă.

Rolul metaloproteinelor în dinamica inflamatorie a fost evidențiat și în studii implicând diverse modele experimentale, pe șoareci.

Aspectele biologice ale gelatinazei de 72 kDa sunt bine reprezentate la nivelul tuturor țesuturilor umane și în principal de către fibroblaști, celule endoteliale și epiteliale, acțiunea ei fiind detectabilă în serul uman în strânsă corelație cu homeostazia.

(3) S-a demonstrat că MMP-2 poate suferi o fosfo-

rilare oxidativă dependentă de PKC. Acest aspect deschide noi perspective despre mecanismele de acțiune a MMP-2 asupra substratului, care par a fi foarte variate (citokine, factori de creștere, receptori sau proteine de legare). (4)

Contribuția MMP-2 la inflamație și metastazare se desfășoară sub mai multe aspecte:

- degradarea matricei extracelulare (colagenul tip IV, laminina, fibronectina), ceea ce duce la eliberarea de celule din/în torrentul sanguin (5);
- eliberarea moleculelor bioactive;
- expunerea siturilor de adeziune moleculară (6).

MMP-9 degradează proteolitic colagenul de tip IV și alte componente ale membranei celulare și expune siturile de legare pentru migrarea celulară sau eliberează factorii bioactivi ascunși. (7,8)

Studii de cercetare au evidențiat că MMP-9 pot fi regăsite și la nivelul celulelor inflamatorii (9,10), PMN-urile reprezentând un „rezervor“ al formei inactive a enzimei (11) și de aici pot fi transformate în forma activă. Într-o măsură mai mică, același lucru se probează și la nivelul fibroblaștilor și celulelor endoteliale.

Studii clinice asupra metaloproteinelor au demonstrat rolul lor important în patologia inflamatorie, fiind implicate în distrucții tisulare focale caracteristice poliartritei reumatoide, osteoartritei, ulcerărilor cutanate cronice, dar și în progresia tumorală. (12-15)

În condiții fiziologice, activitatea proteolitică a MMP este mult redusă. În cazul unei injurii locale (în cazul nostru, contactul cu un alergen) care generează o reacție inflamatorie, se eliberează radicalii de oxigen reactiv și acidul hipocloros, care interacționează cu cisteina legată covalent de zincul sitului catalitic prin intermediul grupării tiol. (16-18) Astfel, enzima devine activă, modulând diferite etape ale inflamației, precum activitatea citokinelor și chemokinelor, crescându-le capacitatea de a recruta noi celule inflamatorii la locul injuriei și, în aceeași măsură, influențându-le și supraviețuirea. (19,20)

Un alt element cheie în procesul inflamator care implică metaloproteinele este migrația leucocitelor de la nivelul vascular către țesuturi. (19,20) Metaloproteinele joacă un rol important și în funcția de „barieră“, prin scindarea proteinelor de joncțiune dintre celulele endoteliale, permițând astfel extravazarea proteinelor plasmatiche și a celulelor inflamatorii. Acest mecanism este explicat prin faptul că MMP-2 și MMP-9 pot scinda ocludina, o componentă ce aparține joncțiunii dintre celulele endoteliale. (21) În funcție de context, metaloproteinele pot activa, inhiba sau antagoniza funcționalitățile biologice ale citokinelor (TNF $\alpha$  și IL1 $\beta$ ) și chemo-

kinelor, astfel stimulând sau, din contră, inhibând reacția inflamatorie prin scindarea chemokinelor de pe receptorii săi antagoniști. (22)

La nivel tisular, proteoliza este un mecanism important în repararea tisulară. Vindecarea are trei stadii: hemostaza și inflamația, reepitelizarea, formarea țesutului de granulație și remodelarea tisulară. (13) Celulele care participă la vindecarea rănilor secretă metaloproteinaze care le modulează activitatea.

Studiile de cercetare au fost efectuate pe pacienții cu rinită hipertrofică de tip alergic. S-au utilizat discuri ce conțin alergen (praf de casă) pentru provocarea reacției imune. S-au efectuat biopsii seriate la 30 de minute, 6 ore și 12 ore după injuria cu alergen, iar probele s-au examinat prin metode imunohistochimice, determinându-se astfel concentrațiile de MMP-2 și MMP-9 la nivelul mucoasei alergice.

Rezultatele la 30 de minute (faza imediată) au demonstrat infiltrarea semnificativă a țesutului cu MMP-2, MMP-9 (acestea din urmă fiind strâns corelate cu numărul mastocitelor), iar la 12 ore (faza tardivă a inflamației) concentrația de MMP-2 și MMP-13 este mult crescută față de lotul control, iar

MMP-2 și MMP-13 sunt puternic corelate cu numărul de eozinofile. La 6 ore nu există modificări semnificative, dar concentrațiile MMP sunt mai mari comparativ cu lotul martor. MMP-2 au fost identificate la nivelul celulelor epiteliale, fibroblastilor și celulelor endoteliale, iar MMP-9 și la nivelul celulelor acinare.

În concluzie, putem spune că nivelul MMP poate constitui un marker fidel al inflamației în rinitele alergice și ar putea fi utilizat ca și test suplimentar în efortul de a evalua acest tip de patologie alături de testele cutanate, testele de provocare și dozarea imunoenzimatică sau radioimună a Ig E.

Mai mult decât atât, cunoscând expresia MMP-urilor, putem infera ideea unei strategii de tratament simptomatic în rinitele alergice, pe principiul diminuării expresiei MMP-urilor la nivelul siturilor alergice. Acestea pot completa tabloul de tratament alături de administrarea topică de substanțe care inhibă degranularea mastocitelor, antihistaminice sau de testele de densibilizare – administrarea repetată a dozelor mici de antigen care stimulează formarea de anticorpi de tip Ig G.

## BIBLIOGRAFIE

- Hellings P.W., Ceuppens J.L., Mouse models of global airway allergy: what have we learned and what should we do next? *Allergy*, 2004. 59(9): p. 914-9.
- Djukanovic R., Wilson S.J., Howarth P.H., Pathology of rhinitis and bronchial asthma. *Clin Exp Allergy*, 1996. 26 Suppl 3: p. 44-51.
- Van den Steen P.E., et al., Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9). *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2002. 37(6): p. 375-536.
- Sariahmetoglu M., et al., Regulation of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) activity by phosphorylation. *FASEB J*, 2007. 21(10): p. 2486-95.
- Bjorklund M., Koivunen E., Gelatinase-mediated migration and invasion of cancer cells. *Biochim Biophys Acta*, 2005. 1755(1): p. 37-69.
- Reichel O., et al., E-cadherin but not beta-catenin expression is decreased in laryngeal biopsies from patients with laryngopharyngeal reflux. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 2008. 265(8): p. 937-42.
- Schenk S., et al., Binding to EGF receptor of a laminin-5 EGF-like fragment liberated during MMP-dependent mammary gland involution. *J Cell Biol*, 2003. 161(1): p. 197-209.
- Stetler-Stevenson W.G., Yu A.E., Proteases in invasion: matrix metalloproteinases. *Semin Cancer Biol*, 2001. 11(2): p. 143-52.
- Coussens L.M., Werb Z., Inflammatory cells and cancer: think different! *J Exp Med*, 2001. 193(6): p. F23-6.
- Egeblad M., Werb Z., New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nat Rev Cancer*, 2002. 2(3): p. 161-74.
- Ardi V.C., et al., Human neutrophils uniquely release TIMP-free MMP-9 to provide a potent catalytic stimulator of angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007. 104(51): p. 20262-7.
- Sternlicht M.D., Werb Z., How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2001. 17: p. 463-516.
- Toriseva M., Kahari V.M., Proteinases in cutaneous wound healing. *Cell Mol Life Sci*, 2009. 66(2): p. 203-24.
- Burrage P.S., Mix K.S., Brinckerhoff C.E., Matrix metalloproteinases: role in arthritis. *Front Biosci*, 2006. 11: p. 529-43.
- Kessenbrock K., Plaks V., Werb Z., Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment. *Cell*, 2010. 141(1): p. 52-67.
- Gomis-Ruth F.X., Structural aspects of the metzincin clan of metalloendopeptidases. *Mol Biotechnol*, 2003. 24(2): p. 157-202.
- Klein T., Bischoff R., Physiology and pathophysiology of matrix metalloproteinases. *Amino Acids*, 2011. 41(2): p. 271-90.
- Fu X., et al., Hypochlorous acid generated by myeloperoxidase modifies adjacent tryptophan and glycine residues in the catalytic domain of matrix metalloproteinase-7 (matrilysin): an oxidative mechanism for restraining proteolytic activity during inflammation. *J Biol Chem*, 2003. 278(31): p. 28403-9.
- Parks W.C., Wilson C.L., Lopez-Boado Y.S., Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation and innate immunity. *Nat Rev Immunol*, 2004. 4(8): p. 617-29.
- Butler G.S., Overall C.M., Matrix metalloproteinase processing of signaling molecules to regulate inflammation. *Periodontol* 2000, 2013. 63(1): p. 123-48.
- Reijerkerk A., et al., Diapedesis of monocytes is associated with MMP-mediated occludin disappearance in brain endothelial cells. *FASEB J*, 2006. 20(14): p. 2550-2.
- McQuibban G.A., et al., Matrix metalloproteinase processing of monocyte chemoattractant proteins generates CC chemokine receptor antagonists with anti-inflammatory properties in vivo. *Blood*, 2002. 100(4): p. 1160-7.