

Wpływ naturalnej ekspozycji na alergen na stężenie rozpuszczalnej formy cząsteczki adhezji międzykomórkowej 1 w surowicy chorych z sezonową alergią dróg oddechowych

JADWIGA KROCZYŃSKA-BEDNAREK, MAGDALENA PIETRZKOWICZ, PAWEŁ GÓRSKI¹,
IWONA GRZELEWSKA-RZYMOWSKA

Uniwersytet Medyczny w Łodzi: Klinika Gruźlicy, Chorób i Nowotworów Płuc, kierownik: *prof. dr hab. med. I. Grzelewska-Rzymowska*,
¹Klinika Pneumonologii i Alergologii, kierownik: *prof. dr hab. med. P. Górski*; Centrum Leczenia Chorób Płuc i Rehabilitacji w Łodzi, kierow-
nik: *inż. J. Kazimierzczak*

**Wpływ naturalnej ekspozycji na alergen na stężenie
rozpuszczalnej formy cząsteczki adhezji międzykomórkowej 1
w surowicy chorych z sezonową alergią dróg
oddechowych**

Kroczyńska-Bednarek J., Pietrkowicz M., Górski P.¹,
Grzelewska-Rzymowska I.

Uniwersytet Medyczny w Łodzi: Klinika Gruźlicy, Chorób i Nowotwo-
rów Płuc, e-mail: *klinika.tbc.um@wp.pl*, ¹Klinika Pneumonologii i Aler-
gologii; Centrum Leczenia Chorób Płuc i Rehabilitacji w Łodzi

U podłoża astmy i alergicznego nieżytu nosa leży przewlekły proces
zapalny. Ważną rolę w zapaleniu alergicznym przypisuje się czą-
steczkom adhezji międzykomórkowej, zwłaszcza ICAM-1 i obecnej
w płynach ustrojowych chorych jej rozpuszczalnej formie sICAM-1.

Celem pracy była ocena, u chorych z różnymi klinicznymi objawami
alergii sezonowej, wpływu naturalnej ekspozycji na pyłki roślin na
stężenie sICAM-1 w surowicy oraz określenie zależności między
stężeniami tej cząsteczki, a nasileniem objawów klinicznych i nie-
swoistą nadreaktywnością oskrzeli (NNO).

Materiał i metody. Badaniem objęto 48 chorych na izolowany sezo-
nowy alergiczny nieżyt nosa (SANN), 26 chorych na sezonową ast-
mę (SA) oraz 16 zdrowych ochotników.

Stężenie sICAM-1 (metodą immunoenzymatyczną ELISA) oraz NO
na metacholinę oznaczono dwukrotnie, tzn. przed sezonem pylenia
traw oraz w okresie rozwiniętych objawów SANN i SA. Nasilenie
objawów klinicznych oceniono metodą punktową z kart samoobser-
wacji chorych.

Wyniki. Wykazano, że średnie stężenie sICAM-1 u chorych na SANN
i SA poza sezonem pylenia nie różni się od stężenia u osób zdro-
wych, ale podczas naturalnej ekspozycji na alergen dochodzi do
znamiennego wzrostu stężenia sICAM-1 w surowicy u wszystkich
chorych.

Wnioski. Stężenie sICAM-1 w surowicy tak u chorych na SANN, jak
i SA w sezonie i poza nim nie koreluje z nasileniem objawów klinicz-
nych i wielkością NNO.

Słowa kluczowe: cząsteczka adhezji międzykomórkowej-1, rozpusz-
czalna forma cząsteczki adhezji międzykomórkowej-1, sezonowy
alergiczny nieżyt nosa, sezonowa astma oskrzelowa, nieswoista
nadreaktywność oskrzeli

Pol. Merk. Lek., 2007, XXII, 128, 140

**Effect of natural allergens exposure on serum concentration
of soluble form of intercellular adhesion molecule 1
in patients with seasonal airway allergy**

Kroczyńska-Bednarek J., Pietrkowicz M., Górski P.¹,
Grzelewska-Rzymowska I.

Medical University of Lodz, Poland: Department of Tuberculosis Lung
and Cancer Disease, e-mail: *klinika.tbc.um@wp.pl*, ¹Department of
Pneumology and Allergology; Provincial Health Care Centre for
Pulmonary Diseases and Rehabilitation in Lodz

Chronic inflammation is a feature of bronchial asthma and allergic
rhinitis. Intercellular adhesion molecules, especially ICAM-1 and its
soluble form sICAM-1 present in systemic liquids play an important
role in allergic inflammation.

The aim of this study was to assess the effect of natural pollen expo-
sure to plants on serum sICAM-1 concentration in patients with dif-
ferent clinical expression of seasonal allergy and to determine the
relation between concentrations of these molecules to clinical symp-
tom score and nonspecific bronchial hyperresponsiveness (BHR).

Material and methods. The study comprised 48 patients with iso-
lated seasonal allergic rhinitis (SAR), 26 patients with seasonal asth-
ma (SA) and 16 healthy volunteers. Serum sICAM-1 concentration
using an immunoenzymatic ELISA method and BHR to methacholi-
ne were measured twice, before grass season and during sympto-
matic period of SAR and SA. Clinical symptoms severity were eva-
luated by pointing method from patients diary cards.

Results. The study revealed no differences in mean concentration
of serum sICAM-1 between patients with SAR and SA but signifi-
cant increase of serum sICAM-1 level during natural allergen expo-
sure in all patients was observed.

Conclusion. Serum concentration of sICAM-1 was not correlated to
symptom score and BHR in both SAR and SA patients in and out of
season.

Key words: intercellular adhesion molecule-1, soluble form of inter-
cellular adhesion molecule-1, seasonal allergic rhinitis, seasonal
bronchial asthma, nonspecific bronchial hyperresponsiveness

Pol. Merk. Lek., 2007, XXII, 128, 140

Sezonowa astma (SA) i sezonowy alergiczny nieżyt nosa (SANN) są postaciami chorób atopowych, których objawy pojawiają się okresowo, tylko w czasie pylenia roślin. Typowe dolegliwości, takie jak napady kichania, wodnisty katar i upośledzenie drożności nosa u chorych na SANN oraz duszność ze świsłami i napady kaszlu u chorych na SA są wynikiem przewlekłego alergicznego zapalenia błony śluzowej dróg oddechowych. Zapalenie to doprowadza do rozwoju nieswoistej nadreaktywności błony śluzowej nosa i/lub oskrzeli, stwierdzanych u wszystkich chorych w czasie sezonu i u czę-

ści po jego zakończeniu [23]. Poza sezonem chorzy na SANN i SA nie doświadczają żadnych klinicznych objawów choroby. Mimo to stwierdza się u nich cechy zapalnego nacieczenia dróg oddechowych [4, 5].

Rozwój alergicznej reakcji zapalnej zależy od napływu komórek do miejsca zapalenia. Istotną rolę w tym zjawisku odgrywają cząsteczki adhezyjne – glikoproteiny – obecne na powierzchni komórek biorących udział w procesie zapalnym i komórek nabłonka błon śluzowych oraz śródbłonna naczyń. Proces migracji komórek dotyczy trzech głównych grup czą-

steczek adhezyjnych. Selektyny obecne na leukocytach, komórkach śródbłonna i w ziarnistościach sekrecyjnych płytek krwi uczestniczą w powstawaniu połączeń między leukocytami, a komórkami śródbłonna. Cząsteczki z nadrodziny immunoglobulin czyli cząsteczki adhezji międzykomórkowej i naczyńowej oraz integryny β_1 i β_2 zaangażowane są bezpośrednio w proces migracji leukocytów. Cząsteczka VLA-4 (ang. very late antigen), występująca na leukocytach i fibroblastach, należąca do β_2 integryn, jest ligandem dla VCAM-1 (ang. vascular cell adhesion molecule-1). Natomiast antygen związany z czynnością limfocytów: LFA-1 (ang. lymphocyte function related antigen-1), z grupy integryn β_1 , obecny na eozynofilach, neutrofilach i limfocytach T jest ligandem dla cząsteczek adhezji międzykomórkowej ICAM-1 i ICAM-2 (ang. intercellular adhesion molecule).

Szczególną rolę w rozwoju zapalenia alergicznego odgrywa ICAM-1 odpowiedzialna za migrację neutrofilów, limfocytów, bazofilów, eozynofilów, monocytów i makrofagów [22]. W wyniku złuszczenia się cząsteczek ICAM-1 z powierzchni komórek, w płynach ustrojowych, w tym we krwi oraz w materiale z płukania błony śluzowej nosa i oskrzeli, pojawia się jej rozpuszczalna postać sICAM-1 (ang. soluble ICAM-1). Najbardziej prawdopodobnym źródłem sICAM-1 są komórki jednokąderowe [30], a wzrost jej stężenia może być zarówno wykładnikiem procesu zapalnego, jak i infekcyjnego niszczenia tkanek. Chihara i wsp. [8, 9] wykazali, że inkubacja eozynofiliów z sICAM-1 wydłuża czas przeżycia tych komórek, jak również zwiększa ich degranulację i uwalnianie mediatorów zapalenia, takich jak na przykład eozynofilowe białko kationowe ECP (ang. eosinophil cationic protein).

Celem pracy było zbadanie, u chorych z różnymi klinicznie objawami alergii sezonowej, zmienności stężenia sICAM-1 w surowicy w okresie naturalnej ekspozycji na pyłki roślin oraz ocena zależności między stężeniami tej cząsteczki w sezonie i poza sezonem pylenia, a wykładnikami choroby, takimi jak nasilenie objawów klinicznych i nieswoista nadreaktywność oskrzeli (NNO).

MATERIAŁ I METODA

Badaną grupę stanowiło 48 chorych na izolowany SANN: 18 kobiet i 30 mężczyzn w wieku od 13 do 48 lat (średnio 27 ± 10 lat) oraz 26 chorych na SA, 10 kobiet i 16 mężczyzn w wieku od 13 do 59 lat (średnio 27 ± 12 lat). Czas trwania alergicznego nieżytu nosa wynosił od 2 do 23 lat (średnio 9 ± 6 lat), astmy 2-28 lat (średnio 9 ± 6 lat). Rozpoznanie SANN ustalono w oparciu o kryteria Międzynarodowej Grupy Roboczej ds. Leczenia Nieżytu Nosa z 1994 i Raportu ARIA z 2001 roku [3, 28]. Rozpoznanie SA było zgodne z wytycznymi Światowej Inicjatywy dla Astmy z 2002 roku [16]. W grupie izolowanego SANN napady kichania, wycieku wodnistej wydzieliny, świądu i uczucia opieszłego nosa występowały sezonowo od końca marca do połowy września. Żaden z badanych nie miał objawów astmy. U wszystkich uczulenie na alergeny wziewne potwierdzono dodatnimi testami skórnymi (39 osób wykazało uczulenie na pyłki traw, 13 i 17 dodatkowo na pyłki drzew oraz chwasty i krzewy, 2 osoby tylko na pyłki drzew, 7 tylko na chwasty i krzewy). W grupie SA objawy choroby pojawiały się na początku maja i trwały do połowy sierpnia. Towarzyszyły jej objawy alergicznego nieżytu nosa i u 19 chorych zapalenia spojówek. U wszystkich testy skórne potwierdziły uczulenie na pyłki traw; 19 osób miało ponadto uczulenie na pyłki drzew, a 21 na chwasty i krzewy. Wszyscy badani (z wyjątkiem 4 osób) mieli dodatnie wyniki testów na alergeny całoroczne, ale u żadnego z nich poza sezonem nie występowały objawy astmy i alergii górnych dróg oddechowych.

Z całej grupy jedynie u 6 osób podczas sezonu pylenia objawy były kontrolowane wyłącznie krótko działającymi β_2 -agonistami i doustnymi lekami przeciwhistaminowymi, przyjmowanymi na żądanie. Większość chorych wymagała

leczenia stałą dawkę wziewnego glikokortykosteroidu podawanego donosowo lub odoskrzelowo, równoważną 500 μ g beklometazonu. Żadna z badanych osób nie otrzymywała ketotifenu, kromoglikanu sodu ani nie była poddana swojej immunoterapii. Podczas trwania próby i w okresie poprzedzających ją 6 tygodni u nikogo nie stwierdzono zakażenia układu oddechowego.

Grupę kontrolną stanowiło 16 nieatopowych, zdrowych ochotników (8 kobiet i 8 mężczyzn) w wieku 20-29 lat (średnio 24 ± 2 lat), u których astmę i SANN wykluczono na podstawie wywiadu, testów skórnych z alergenami wziewnymi i ujemnego wyniku próby dooskrzelowej prowokacji metacholiną.

Na przeprowadzenie badań uzyskano pisemną zgodę Komisji Bioetycznej d/s Badań na Ludziach Uniwersytetu Medycznego w Łodzi oraz zgodę badanych pacjentów.

Plan badania

U wszystkich badanych dwukrotnie, tzn. przed sezonem pylenia roślin (grudzień/styczeń) oraz w okresie rozwiniętych klinicznych objawów SANN i SA (czerwiec/lipiec) oznaczono stężenie sICAM-1 w surowicy. W tym samym czasie dokonano pomiaru wskaźników wentylacji (FVC – natężona pojemność życiowa i FEV₁ – natężona objętość wydechuwa 1-sekundowa) i NO na metacholinę. Badania spirometryczne wykonywano przy użyciu spirometru Lung Test 1000 firmy Mes zgodnie z kryteriami ATS. Test dooskrzelowej prowokacji metacholiną (firmy Merck) wykonywano według metody Cockcrofta i wsp. [13]. Oddychając objętością oddechową (TV) badani wdychali przez 1 minutę dwukrotnie wzrastające stężenia metacholiny, które podawano w odstępach 5 minutowych. FEV₁ mierzono w 2 minucie po zakończeniu wziewania substancji prowokującej. Reaktywność oskrzeli wyrażano wartością PC₂₀M w mg/ml, to jest stężeniem metacholiny powodującym co najmniej 20% spadek wartości FEV₁. Jeżeli największe stężenie metacholiny nie wywołało oczekiwanego spadku FEV₁, jego wartość przyjmowano za PC₂₀M. W okresie pylenia stosowanie wziewnych β_2 -agonistów wstrzymano na 12 godzin, a wziewnych glikokortykosteroidów na 48 godzin przed badaniem.

W czasie próby chorzy prowadzili karty samoobserwacji, w których metodą punktową oceniali – w skali od 0 do 4 – nasilenie klinicznych objawów alergii górnych dróg oddechowych (wodnisty wyciek, kichanie, świąd, uczucia „blokady” nosa, łzawienie i świąd spojówek) oraz astmy (kaszel i duszność pojawiające się podczas dnia i w nocy). Do oceny objawów wybrano okres 3 kolejnych tygodni kiedy występowało największe nasilenie dolegliwości, a następnie obliczono średnią dzienną punktową wartość objawów dla każdego pacjenta i dla całej grupy.

Stężenia sICAM-1 w surowicy oznaczono ilościowo metodą immunoenzymatyczną ELISA używając zestawu Parameter firmy RnD System. Zastosowano metodę kapnakową, w której użyto przeciwciał przeciw sICAM-1 znakowanych peroksydazą chrzanową.

Od każdego chorego dwukrotnie, tj. w sezonie i poza sezonem pylenia roślin, pobrano 5 ml krwi z żyły łokciowej. Przechowywano ją zamrożoną. W dniu oznaczenia do każdego zgłębnienia w płytce nałożono po 100 μ l surowicy pacjenta lub referencyjnej, a następnie po 200 μ l koniugatu przeciwciała-enzym (przeciwciała anty sICAM-1, znakowane peroksydazą chrzanową). Następnie mikropłytki inkubowano przez godzinę w temperaturze 37°C. Po okresie inkubacji mikropłytki płukano roztworem p-nitrofenylofosforanu (PNPP) w chlorku magnezu i dietanoloaminie – po 200 μ l roztworu PNPP do każdej mikropłytki, a następnie poddano ponownej inkubacji przez godzinę w temperaturze 37°C. Po zakończeniu inkubacji do każdej mikropłytki dodano po 50 μ l odczynnika hamującego (wodorotlenek sodowy). sICAM-1 z próbki oraz anty-sICAM-1-peroksydaza chrzanowa pozostały związane na powierzchni fazy stałej. Ilość enzymu w kompleksie kapnakowym była proporcjonalna do ilości antygeny w próbce.

Kolejnym etapem było odczytanie na fotometrze ekstynkcji próbek przy długości fali 450nm, a następnie odczytanie stężenia badanej próbki w IU/ml z krzywej wzorcowej (na osi rzędnych wartość ekstynkcji, na osi odciętych stężenia standardowe).

Czułość testu, czyli minimalne stężenie sICAM-1 odróżniane od standardu o stężeniu 0 ng/ml, wynosiła 0,35ng/mL. Dokładność testu „intraassay” wynosiła 3,3-4,8%, „interassay” 6,1-10,1%. Dla badanych zmiennych obliczono średnie arytmetyczne i odchylenia standardowe średnich arytmetycznych (SD). Ze względu na duży rozrzut wartości w grupach PC₂₀ przedstawiono jako średnią geometryczną. W analizie statystycznej zastosowano test różnic, Wilcoxon rang różnic dla par, t-Studenta dla małych prób oraz Manna-Whitney'a. Zależności między badanymi parametrami oceniono testem dla współczynnika korelacji rang Spearmana. Przyjęto poziom istotności p<0,05.

WYNIKI

Charakterystykę badanych grup chorych oraz wartości mierzonych parametrów przedstawia tabela 1. NNO stwierdzono u 10 chorych na SANN czyli u 21% ($\bar{x}_g$ PC₂₀M – 15,47±6,04mg/ml) poza sezonem i u 19 chorych czyli u 40% w sezonie ($\bar{x}_g$ PC₂₀M – 9,88±6,21mg/ml); (p<0,01). Spośród chorych na SA, poza sezonem, NNO stwierdzono u 18 osób to jest 69% ($\bar{x}_g$ PC₂₀M – 9,4±7,63 mg/ml). W sezonie cecha ta dotyczyła wszystkich badanych, a $\bar{x}_g$ PC₂₀M zmniejszyła się blisko czterokrotnie, osiągając wartość 2,4±7,63 mg/ml; (p<0,0001). W obu badanych okresach PC₂₀M u chorych na SA była znacznie mniejsza niż u chorych na SANN (p<0,05 poza sezonem i p<0,0001 w sezonie). Sezonowemu wzrostowi NNO w żadnej z badanych grup nie towarzyszyły istotne zmiany wskaźników wentylacji, a średnie ich wartości zarówno poza sezonem, jak i w czasie jego trwania w obu grupach były prawidłowe (tab. 1). Z uwagi na niejednorodność występowania NNO u chorych na SANN oceny stężenia sICAM-1 dokonano z zachowaniem podziału na podgrupy z NO i bez obecności tej cechy. Porównawcza charakterystyka obu podgrup wykazała, że zarówno wiek, czas trwania choroby, jak i wskaźniki wentylacji w sezonie i poza sezonem były u nich jednakowe. Różnice dotyczyły jedynie nasilenia objawów klinicznych (tab. 1). U wszystkich badanych

objawy nieżytu nosa pojawiły się już na przełomie marca i kwietnia, a największe nasilenie osiągnęły w czerwcu. Średnia dzienna punktowa wartość klinicznych objawów SANN u chorych z NO wynosiła 9,52±4,07 (zakres od 2,1 do 14,6) i była znacznie wyższa niż u chorych bez NO: 4,5±3,14 (zakres od 1,8 do 13,7); (p<0,05). U chorych na astmę pierwsze napady duszności/kaszu pojawiły się między 20 a 30 maja, a średnia dzienna wartość punktowa objawów z okresu 3 tygodni największego ich nasilenia wynosiła 6,72±3,46 punktów (zakres od 0,3 do 12,9).

Poza sezonem stężenie sICAM-1 w surowicy, w obu podgrupach chorych na SANN, było podobne i wynosiło 334,12±74,69ng/ml u osób z NO oraz 321,86±92,11ng/ml u osób bez tej cechy; (p>0,05). W sezonie obserwowano znamienne i porównywalny wzrost stężenia sICAM-1 odpowiednio do 396,83±82,49ng/ml u chorych na SANN z NO (p<0,001) i 366,55±103,58ng/ml u chorych na SANN bez NO (p<0,01); (tab. 2). W grupie chorych na SA średnie stężenie sICAM-1 wynosiło 311,12±67,38ng/ml przed sezonem pylenia traw i 347,04 ±91,06ng/ml w okresie rozwiniętych objawów astmy; (p<0,001).

Poza sezonem pylenia stężenie sICAM-1 w surowicy chorych na SA i izolowany SANN bez NO było takie jak w grupie kontrolnej; (p>0,05). Jedynie u chorych na SANN z NO już wtedy stężenie tej cząsteczki było wyższe niż u zdrowych; (p=0,05). W czasie naturalnej ekspozycji na alergen, we wszystkich badanych grupach, stężenia sICAM-1 przewyższyły wartości uzyskane w grupie kontrolnej. Ani w sezonie, ani poza nim nie stwierdzono różnic średnich stężeń sICAM-1 w surowicy chorych na SA i SANN; (p>0,05).

W żadnej z badanych grup chorych nie stwierdzono korelacji między stężeniem sICAM-1 w surowicy a wielkością NNO i nasileniem objawów klinicznych. Zależności tej nie obserwowano nawet u chorych na SANN z NO mimo, że stężenie sICAM-1 i punktowa ocena objawów w tej grupie były wyższe niż u pozostałych chorych (tab. 3).

OMÓWIENIE

We wszystkich badanych grupach chorych z wziewnym uczuleniem na pyłki traw w czasie sezonu obserwowaliśmy znamienne wzrost stężenia sICAM-1 w surowicy. Stężenie tej cząsteczki – zarówno u chorych na SANN, jak i SA przewyż-

Tabela 1. Charakterystyka badanych grup chorych
Table 1. Characteristic of investigated patient groups

Cecha Feature	SANN z NO SAR with BHR		SANN bez NO SAR without BHR		SA SA	
Liczba chorych Number of patients	19		29		26	
K/M F/M	7/12		11/18		10/16	
Wiek/Age w latach/in years	18-43 27±8		13-48 27±11		13-59 27±12	
Czas trwania choroby Time of disease duration w latach/in years	2-20 9,5±5,7		2-23 8,4±6,5		2-28 8,7±5,8	
Czas pomiaru wskaźnika Measure time of parameter	poza sezonem out of season	w sezonie in season	poza sezonem out of season	w sezonie in season	poza sezonem out of season	w sezonie in season
FVC w litrach/in liters	4,21±0,89	4,38±0,97	4,18±0,85	4,22±0,87	4,09±0,91	3,98±0,78
w % normy in % predicted	101,2±12,6	105,3±13,1	100,5±12,0	101,5±11,9	102±13,4	101,6±10,1
FEV ₁ w litrach/in liters	3,90±0,95	3,84±0,93	3,67±0,82	3,71±0,79	3,59±0,84	3,56±0,84
w % normy in % predicted	97,5±12,5	96,0±12,3	99,0±13,5	99,5±11,7	95,0±11,8	94,9±10,8
Punktowe nasilenie objawów klinicznych Clinical symptoms score	–	9,52±4,07 (2,1-14,6)	–	4,50±3,14 (1,8 - 13,7)	–	6,72±3,46 (0,3 - 12,9)
PC ₂₀ M w mg/ml/in mg/ml	15,47±6,0 5,3-20,0	9,88±6,21 0,5-20,0	–	–	9,40±7,63 0,005-20,0	2,40±7,63 0,005-8,69

Tabela 2. Stężenia sICAM-1 w ng/ml w badanych grupach chorych poza i w sezonie pylenia
Table 2. sICAM-1 concentrations in ng/ml in investigated groups of patients out and in pollen season

Grupy chorych Patient groups	Stężenie sICAM-1 w ng/ml sICAM-1 concentration in ng/ml				wartość p p value
	poza sezonem out of season		w sezonie in season		
	$\bar{x} \pm SD$	zakres range	$\bar{x} \pm SD$	zakres range	
SANN z NO SAR with BHR	334,12 $\pm$ 74,69*	223,8-558,12	396,83 $\pm$ 82,49	245,98-548,1	p<0,001
SANN bez NO SAR without BHR	321,86 $\pm$ 92,11	189,26-623,3	366,55 $\pm$ 103,58	207,5-638,22	p<0,001
SA SA	311,12 $\pm$ 67,38	141,8-496,84	347,04 $\pm$ 91,06	176,21-543,48	p<0,001
Zdrowi Healthy subjects	280,88 $\pm$ 43,18*	153,18-351,02	277,46 $\pm$ 39,03	147,21-338,26	p>0,05
	p>0,05		p<0,05		

* p=0,05

Tabela 3. Współczynniki korelacji między stężeniem sICAM-1 w surowicy w ng/ml, a punktowym nasileniem objawów klinicznych i wartością PC₂₀M w mg/ml u chorych na SANN i SA w sezonie pylenia i poza tym okresem
Table 3. Correlation indicators between sICAM-1 concentration in serum in ng/ml and clinical symptoms score and PC₂₀M value in mg/ml in patients with SAR and SA out and in season

	Stężenie sICAM-1 w ng/ml /sICAM-1 concentration in ng/ml					
	SANN z NO SAR with BHR		SANN bez NO SAR without BHR		SA SA	
Punktowne nasilenie objawów klinicznych Clinical symptoms score	r= 0,331 p>0,05		r= -0,094 p>0,05		r= -0,171 p>0,05	
PC ₂₀ M	poza sezonem out of season	w sezonie in season	poza sezonem out of season	w sezonie in season	poza sezonem out of season	w sezonie in season
	r= -0,398 p>0,05	r= -0,115 p>0,05	r= -0,375 p>0,05	r= -0,098 p>0,05	r= -0,082 p>0,05	r= 0,105 p>0,05

szyło wówczas znacznie wartości stwierdzone u osób zdrowych. Fakt, że w obu grupach sICAM-1 w surowicy osiągnęło w tym czasie podobne stężenia dowodzi, że poziom stężenia nie zależał od rozległości procesu chorobowego. Wzrost stężenia sICAM-1 w surowicy i dodatkowo w popłuczynach nosa u chorych na SANN – w okresie naturalnej ekspozycji na alergeny – wykazali Kato i wsp. [21]. W obu materiałach w sezonie stężenie sICAM-1 było u chorych znacząco wyższe niż u zdrowych. W krótkim czasie po zakończeniu sezonu, gdy chorzy nie mieli już objawów SANN, stężenie sICAM-1 w surowicy wg tych autorów nadal pozostawało podwyższone, mimo że w materiale z płukania nosa powróciło do wartości wyjściowych. Ciekawa jest obserwacja Ricca i wsp. [29], którzy stwierdzili, że ekspresja ICAM-1 na komórkach nabłonka nosa u chorych na SANN nie ulega zmniejszeniu nawet w okresie wolnym od objawów. Większą niż u zdrowych osób ekspresję tej cząsteczki na komórkach nabłonka nosa, pobranych poza sezonem, ale od chorych na astmę z uczuleniem na pyłki traw wykazali Bianco i wsp. [2]. W czasie sezonu autorzy obserwowali dalszy, znamieny wzrost ekspresji ICAM-1 na komórkach nabłonka nosa u takich chorych.

Poza sezonem pylenia jedynie u chorych na SANN, z prze-trwałą z okresu sezonu NO, stężenie sICAM-1 w surowicy było wyższe niż w grupie kontrolnej. Pozostali chorzy na SANN oraz chorzy na SA, w okresie wolnym od objawów, mieli stężenie sICAM-1 zbliżone do stężenia u osób zdrowych. Także Kato i wsp. [21] poza sezonem nie stwierdzili różnic w stężeniu sICAM-1 w surowicy oraz w materiale z płukania nosa między chorymi na SANN a zdrowymi. Wskazuje to na zależność stężenia tej cząsteczki od ekspozycji alergenowej. Hipotezę tę potwierdzają badania Gilain i wsp. [15], którzy poza sezonem pylenia obserwowali większe stężenie sICAM-1 w materiale z płukania nosa u chorych na całoroczny nieżyt nosa, a więc osób znajdujących się pod wpływem stałego narażenia na alergeny, niż u chorych na SANN i zdrowych.

U chorych na SANN wzrost ekspresji ICAM-1 na komórkach nabłonka błony śluzowej nosa – poza sezonem pylenia – można wywołać także donosowym podaniem alergenu. Stosując taki model badawczy Ciprandi i wsp. [12] obserwowali go zarówno we wczesnej, jak i późnej fazie reakcji alergicznej. Był on stwierdzany jeszcze po upływie 24 godzin od prowokacji i występował nawet u chorych bez późnej odpowiedzi na alergen. U osób zdrowych natomiast nie obserwowano ekspresji ICAM-1 ani w warunkach podstawowych, ani po prowokacji alergenowej. Również Braunstahl i wsp. [5] stwierdzili u chorych na SANN – poza sezonem pylenia – wzrost ekspresji ICAM-1, VCAM-1 i selektyny E na komórkach nabłonka błony śluzowej nosa oraz zwiększenie odsetka naczyń z ekspresją tych cząsteczek na śródbłonku, po 24 godzinach od donosowej prowokacji alergenem. Zwiększoną ekspresję ICAM-1 i VCAM-1 obserwowano również na komórkach nabłonka i śródbłonka błony śluzowej i podśluzowej oskrzeli takich chorych, mimo że nie doświadczali oni objawów astmy. Z cytowanych badań wynika, że ekspresja ICAM-1 na komórkach nabłonka błony śluzowej nosa jest u chorych na SANN wczesnym i czułym wskaźnikiem zapalenia niż wzrost stężenia sICAM-1 w surowicy.

Także u chorych na astmę, poddanych naturalnej ekspozycji na alergeny, stwierdzono wzrost ekspresji ICAM-1 na komórkach nabłonka i śródbłonka błony śluzowej oskrzeli [1]. Znajdowano go również w surowicy, materiale z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego BAL (ang. broncho-alveolar lavage) i w indukowanej płwocinie uzyskiwanej od takich pacjentów [6, 18, 25]. Chihara i wsp. [10] stwierdzili, że stężenie sICAM-1 w płwocinie chorych na stabilną astmę było prawie trzykrotnie wyższe niż u zdrowych ochotników. Potwierdzili to Louis i wsp. [24], wykazując ponadto u chorych dwukrotnie większą niż u zdrowych ekspresję ICAM-1 na limfocytach T, pochodzących z krwi i płwociny. Jednak w grupie chorych na astmę więcej komórek wykazujących ekspresję ICAM-1 znaleziono w płwocinie niż w surowicy, gdzie tylko

5% limfocytów charakteryzowało się ekspresją tej cząsteczki. Autorzy ci sądzą, że ekspresja ICAM-1 na limfocytach T odbywa się przede wszystkim miejscowo w układzie oddechowym albo, że do miejsca reakcji zapalnej migrują tylko komórki charakteryzujące się ekspresją tej cząsteczki. Wzrost stężenia sICAM-1 w płwocinie chorych na astmę obserwowano też w warunkach doświadczalnych. U *Gonokami* i wsp. [17] wystąpił on dopiero w 24 godziny po dooskrzelowej prowokacji alergenem i tylko u tych chorych, u których rozwinęła się podwójna reakcja alergiczna, a stężenie sICAM-1 w płwocinie badanych korelowało ze stężeniem ECP. Natomiast *Hirata* i wsp. [19] wykazali *in vitro*, że ekspozycja na alergeny nasila komórkową ekspresję cząsteczek adhezyjnych. Inkubując wycinki oskrzeli, pobrane od pacjentów nieatopowych, z surowicą zawierającą swoiste alergeny, badacze ci stwierdzili pojawienie się ekspresji ICAM-1, selektyny E i VCAM-1 zarówno na komórkach śródbłonna jak i nabłonka oskrzeli, przy czym wzrost ekspresji ICAM-1 obserwowany był jeszcze w 240 i 280 minucie po prowokacji.

Większość badaczy wzrost stężenia sICAM-1 w surowicy i w BAL chorych na astmę obserwowało wyłącznie w okresie zaostrzenia [10, 26]. I tak na przykład *Montefort* i wsp. [26] stwierdzili blisko dwukrotnie wyższe stężenia tej cząsteczki w surowicy u chorych na astmę w czasie zaostrzenia w porównaniu ze stężeniami u chorych w stabilnym okresie i u osób zdrowych. Wzrost ten nastąpił już w pierwszym dniu zaostrzenia i utrzymywał się aż do 28 dnia, mimo że chorzy byli poddani leczeniu przeciwzapalnemu. *Bentley* i wsp. [1] wykazali natomiast, że ekspresja ICAM-1, VCAM-1 i selektyny E u chorych na astmę atopową, znajdujących się w stabilnym okresie choroby, była taka sama jak u osób zdrowych. Potwierdzają to badania *DoEgu* i wsp. [14], którzy stwierdzili, że u dzieci leczonych z powodu ciężkiego zaostrzenia astmy stężenie sICAM-1 w surowicy nie różni się od tego, jakie stwierdza się u chorych z astmą stabilną oraz u zdrowych i koreluje ujemnie z dawką oraz czasem przyjmowania wziewnych glikokortykosteroidów.

Biorąc pod uwagę wpływ ekspozycji alergenowej na stężenie sICAM-1 można sądzić, że małe stężenie tej cząsteczki w surowicy u chorych na stabilną astmę całoroczną wynika z niewielkiej lub nawet podprogowej ekspozycji na alergen jakim jest kurz domowy. Duże narażenie na alergeny środowiskowe u chorych na SA w sezonie pylenia lub wpływ czynnika infekcyjnego u chorych na astmę przewlekłą wiąże się ze znamienym wzrostem stężenia sICAM-1 w surowicy.

Stwierdzony przez nas znamieny wzrost stężenia sICAM-1 w surowicy chorych na SANN i SA – w okresie naturalnej ekspozycji na alergeny pyłkowe – dowodzi wpływu tej ekspozycji zarówno na miejscową, jak i ogólnoustrojową reakcję zapalną. Potwierdzili to także *Takahaski* i wsp. [31] obserwując, po dooskrzelowej prowokacji alergenem u chorych na SANN i astmę, wzrost stężenia sICAM-1 nie tylko w BAL, ale również w surowicy. Mimo, iż w obu badanych grupach chorych wzrost stężenia sICAM-1 w surowicy, w sezonie pylenia, towarzyszył występowaniu w pełni rozwiniętych klinicznych objawów choroby, zarówno u chorych na SANN, jak SA nie stwierdziliśmy korelacji między stężeniem tej cząsteczki w surowicy a intensywnością odczuwanych objawów. Również *Bentley* i wsp. [1] nie znaleźli zależności między ekspresją ICAM-1 w wycinkach oskrzeli a objawami klinicznymi u chorych na astmę. Natomiast *Marguet* i wsp. [25] taki związek obserwowali.

Zależności takiej nie wykazaliśmy także w odniesieniu do NNO mimo, że równolegle do wzrostu stężenia sICAM-1 w surowicy u wszystkich chorych na SA i większości chorych na SANN – w okresie ekspozycji na alergeny – stwierdziliśmy znamieny wzrost NNO. U 37% badanych z SANN NO osiągnęła nawet wartości typowe dla chorych na astmę. Większość chorych na SA i 21% chorych na SANN miało mierzalną NO również poza sezonem pylenia. Podobne wyniki uzyskali wcześniej inni badacze [4].

Istnieją dowody na to, że NNO u chorych na SA jest wynikiem przewlekłego procesu zapalnego, toczącego się w błonie śluzowej oskrzeli zarówno w trakcie, jak i poza sezonem pylenia [4, 27].

Także u chorych na SANN występowanie NNO poza sezonem pylenia tłumaczy się obecnością „przewlekłego minimalnego zapalenia” MPI (ang. minimal persistent inflammation), które nie ulega wygaszeniu nawet wtedy, gdy chorzy nie odczuwają żadnych dolegliwości [11, 29]. Istnienie takiego aktywnego zapalenia w oskrzelach u chorych na SANN potwierdzają też ostatnie badania *Braunstaahl* i wsp. [5]. Po miejscowej dooskrzelowej prowokacji swoistym alergenem – poza sezonem – autorzy ci uzyskali wzrost eozynofilów i immunoreaktywności IL-5 w błonie śluzowej oskrzeli i nosa badanych, mimo że chorzy ci nie mieli objawów astmy. Również NNO u chorych na SANN może też wynikać z przebudowy błony śluzowej oskrzeli, polegającej na miejscowej, podśródbłonkowej depozycji kolagenu typu I i III [7]. Ta złożoność mechanizmów NNO zarówno u chorych na astmę, jak i cierpiących na alergiczny nieżyt nosa wyjaśnia obserwowany przez nas brak korelacji między stężeniem sICAM-1 w surowicy a NNO. Wyniki te są zgodne z obserwacjami *Montefort’a* i wsp. [26], którzy również nie stwierdzili takiej korelacji u chorych na stabilną astmę. *Bentley* i wsp. [1] nie znaleźli jej nawet między ekspresją ICAM-1 w wycinkach oskrzeli, a NNO u chorych na astmę przewlekłą. Natomiast *Janson* i wsp. [20] obserwowali taką korelację u chorych na astmę nieatopową, ale tylko w odniesieniu do stężenia sE-selektyny w surowicy.

WNIOSKI

- Średnie stężenie sICAM-1 u chorych na SANN i SA poza sezonem pylenia nie różni się od stężenia u osób zdrowych. Naturalna ekspozycja na alergeny wiąże się ze znamienym wzrostem stężenia sICAM-1 w surowicy u wszystkich chorych z sezonową alergią dróg oddechowych.
- Stężenie sICAM-1 w surowicy u chorych na SANN i SA w sezonie i poza nim nie koreluje z nasileniem objawów klinicznych i wielkością nieswoistej nadreaktywności oskrzeli.

Praca finansowana z funduszu UM w Łodzi. Nr 502-11-561

PIŚMIENNICTWO

- Bentley A.M. i wsp.: Expression of endothelial and leukocyte adhesion molecules intercellular adhesion molecule-1, E-selectin, and vascular cell adhesion molecule-1 in the bronchial mucosa in steady-state and allergen-induced asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1993, 92, 857-68.
- Bianco A. i wsp.: Expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in nasal epithelial cell of atopic subjects: a mechanism for increased rhinovirus infection? *Clin. Exp. Immunol.*, 2000, 121, 339-345.
- Bosquet J. i wsp.: Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2001, 108 (suppl), 147-334.
- Boulet L.P. i wsp.: Influence of natural allergic exposure on expiratory flows, metacholine responsiveness, and airway inflammation in mild allergic asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1993, 91, 883-893.
- Braunstaahl G.J. i wsp.: Segmental bronchial provocation induces nasal inflammation in allergic rhinitis patients. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2000, 161, 2051-2057.
- Cengizlier R., i wsp.: Circulating ICAM-1 levels in bronchial asthma and the effect of inhaled corticosteroids. *Ann. Allergy Asthma Immunol.*, 2000, 84, 539-541.
- Chakir J., Laviolette M., Boutet M.: Lower airway remodeling in nonasthmatic subjects with allergic rhinitis. *Lab. Invest.*, 1996, 75, 735-744.
- Chihara J. i wsp.: Signaling through the beta2 integrin prolongs eosinophil survival. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2000, 106, 99-103.
- Chihara J. i wsp.: Degranulation of eosinophils mediated by intercellular adhesion molecule-1 and its ligands is involved in adhesion molecule expression on endothelial cells-selective induction of VCAM-1. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1999, 103, 452-456.
- Chihara J. i wsp.: Soluble ICAM-1 in sputum of patients with bronchial asthma. *Lancet*, 1994, 343, 1108 (Letter).
- Ciprandi G. i wsp.: Minimal persistent inflammation is present at mucosal level in patients with asymptomatic rhinitis and mite allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1995, 96, 971-979.

12. Ciprandi G. i wsp.: *Allergen specific challenge induces intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1 or CD54) on nasal epithelial cells in allergic subjects*. Am. J. Respir. Crit. Care Med., 1994, 150, 1653-1659.
13. Cockcroft D.W. i wsp.: *Bronchial reactivity to inhaled histamine: a method for clinical severity*. Clin. Allergy, 1977, 7, 235-243.
14. DoEgu F. i wsp.: *Circulating adhesion molecule levels in childhood asthma*. Indian Pediatr., 2002, 39, 1017-1021.
15. Gilain L. i wsp.: *Nasal soluble levels of ICAM-1 in allergic rhinitis*. Ann. Otolaryngol. Chir. Cervicofac., 2000, 117, 91-97.
16. *Global Initiative for Asthma*. WHO/NHLBI workshop report: National Institutes of Health, National Heart, Lung and Blood Institute, Publication Number 02-3569, 2002.
17. Gonokami Y. i wsp.: *Circulating intracellular adhesion molecule-1 concentrations following bronchial provocation in atopic asthma*. Int. Arch. Allergy Immunol., 1997, 112, 386-391.
18. Hashimoto S. i wsp.: *Elevated levels of soluble ICAM-1 in sera from patients with bronchial asthma*. Allergy, 1993, 48, 370-372.
19. Hirata N. i wsp.: *Allergen exposure induces the expression of endothelial adhesion molecules in passively sensitized human bronchus: time course and the role of cytokines*. Am. J. Respir. Cell Mol. Biol., 1998, 18, 12-20.
20. Janson C. I. i wsp.: *Circulating adhesion molecules in allergic and non-allergic asthma*. Respir. Med., 2005, 99(1), 45-51.
21. Kato M., i wsp.: *Soluble ICAM-1 as a regulator of nasal allergic reaction under natural allergen provocation*. Clin. Exp. Allergy, 1995, 25, 744-748.
22. Keramidaris E. i wsp.: *L-selectin and intercellular adhesion molecule 1 mediate lymphocyte migration to the inflamed airway/lung during an allergic inflammatory response in an animal model of asthma*. J. Allergy Clin. Immunol., 2001, 107(4), 734-738.
23. Kroczyńska-Bednarek J., Grzelewska-Rzymowska I., Tymińska K.: *Nie-swoista nadreaktywność oskrzeli u chorych na sezonową astmę oskrzelową obserwowanych przez dwa kolejne lata*. Pol. Arch. Med. Wewn., 1997, 97, 216-223.
24. Louis R. i wsp.: *ICAM-1 expression and eosinophil chemotactic activity in asthmatic sputum*. Am. J. Respir. Crit. Care Med., 1997, 155, 446-472.
25. Marguet Ch., Dean T.P., Warner J.O.: *Soluble Intercellular Adhesion Molecule-1 (sICAM-1) and Interferon-Gamma in Bronchoalveolar Lavage Fluid from Children with Airway Diseases*. Am. J. Respir. Crit. Care Med., 2000, 162(3), 1016-1022.
26. Montefort S., Lai C.K.W. i wsp.: *Circulating adhesion molecules in asthma*. Am. J. Respir. Crit. Care Med., 1994, 149, 1149-1152.
27. Rak S. i wsp.: *The effect of immunotherapy on eosinophil accumulation and production of eosinophil chemotactic activity in the lung of subjects with asthma during natural pollen exposure*. J. Allergy Clin. Immunol., 1991, 88, 878-888.
28. *Raport z Międzynarodowego Posiedzenia Dotyczącego Diagnostyki i Leczenia Nieżytu Nosa*. Kopenhaga, 1994, Allergy, 1994, 49, 1-33.
29. Ricca V. i wsp.: *Minimal persistent inflammation is also present in patients with seasonal allergic rhinitis*. J. Allergy Clin. Immunol., 1999, 104, 54-57.
30. Seth R., Raymond F.D., Makgoba M.W.: *Circulating ICAM-1 isoforms: diagnostic prospects for inflammatory and immune disorders*. Lancet, 1991, 338, 83-84.
31. Takahashi N. i wsp.: *Soluble intracellular adhesion molecule-1 in bronchoalveolar lavage fluid of allergic subjects following segmental antigen challenge*. Am. J. Respir. Crit. Care Med., 1994, 150, 704-709.

Otrzymano 5 października 2006 r.

Adres: Jadwiga Kroczyńska-Bednarek, Klinika Gruźlicy, Chorób i Nowotworów Płuc, Uniwersytet Medyczny, 91-520 Łódź, ul. Okólna 181, tel./fax (42) 617 72 95, e-mail: jagoda.bednarek@poczta.fm

Choroby obturacyjne (astma i POChP)

Charakter kursu: kurs specjalizacyjny dla lekarzy specjalizujących się w chorobach płuc.

Termin: 01.10.2007 – 05.10.2007

Organizator:

Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, 01-813 Warszawa, ul. Marymoncka 99

Miejsce kursu:

Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc, Oddział Terenowy im. Jana i Ireny Rudników, Klinika Alergologii i Pneumonologii, ul. Prof. Jana Rudnika 3 B, 34-700 Rabka-Zdrój

Kierownik naukowy: prof. dr hab. med. Ryszard Kurzawa

Zgłoszenia na kurs:

Wyłącznie na formularzu zgłoszenia na kursy w ramach programu dydaktycznego CMKP.

Studium Kliniczno-Dydaktyczne; ul. Marymoncka 99, 01-813 Warszawa, tel.: (0 22) 569 38 07, fax.: (0 22) 569 37 12 lub 809, e-mail: kursy-4@cmkp.edu.pl

Płatność: specjalizacyjny – bezpłatny