

Odpowiedź późna po donosowej próbie prowokacyjnej z alergenem

The late-phase reaction after nasal airway challenge with allergen

Bolesław Samoliński^{1,2}, Piotr Rapiejko^{1,3}

¹Zakład Profilaktyki Zagrożeń Środowiskowych i Alergologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, kierownik Zakładu: prof. dr hab. n. med. Bolesław Samoliński

²Zakład Alergologii i Immunologii Klinicznej SPCSK w Warszawie, kierownik Zakładu: prof. dr hab. n. med. Bolesław Samoliński

³Klinika Otolaryngologiczna Wojskowego Instytutu Medycznego w Warszawie, Centralny Szpital Kliniczny MON, kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. Dariusz Jurkiewicz

Post Dermatol Alergol 2010; XXVII, 3: 173–176

Streszczenie

W przewlekłej ekspozycji na alergeny czynniki chemotaktyczne prowadzą do powstania charakterystycznego nacieku eozynofików, bazofików i komórek tucznych. Objawy chorobowe są wynikiem wpływu mediatorów na struktury naczyniowe, gruczołowe i nerwowe błony śluzowej. Autorzy omawiają reakcje, jakie zachodzą w błonie śluzowej nosa w późnej fazie reakcji alergicznej.

Słowa kluczowe: alergia, błona śluzowa nosa, reakcja alergiczna, odpowiedź późna.

Abstract

Mast cell derived mediators and cytokines are responsible for cellular recruitment and development of the late-phase response. Eosinophils are the major effector cells in the nasal secretions of patients with allergic rhinitis during the responses to allergen challenges. Nasal allergic symptoms are the result of the influence of mediators on neural, vascular and glandular structures of the nasal mucosa. The author describes reactions in the nasal mucosa in the early and late phase of the allergic reaction.

Key words: allergy, nasal mucosa, allergic reaction, late-phase reaction.

Wprowadzenie

W późnej fazie reakcji alergicznej, podczas narażenia na alergen w warunkach naturalnych, pobudzone komórki dróg oddechowych uwalniają do krwi cytokiny i chemokiny, przez co powodują wyrzut ze szpiku kostnego leukocytów biorących udział w reakcji zapalnej, zwłaszcza eozynofików i ich prekursorów [1, 2].

Działające w przebiegu przewlekłego alergicznego nieżyty nosa bodźce alergiczne podtrzymują toczący się proces zapalny, powodujący objawy choroby [3].

Napływ komórek zapalnych do dróg oddechowych

Do zapalnie zmienionych dróg oddechowych napływają komórki z krwi obwodowej, takie jak: eozynofile,

bazofile, limfocyty i monocyty. Proces ten rozpoczyna się zwiększoną ekspresją cząsteczek przylegania na komórkach śródbłonna naczyń krwionośnych, wywołaną działaniem niektórych mediatorów reakcji zapalnej. Wiązanie cząsteczek przylegania z ich ligandami obecnymi na leukocytach „toczących się” po ścianie naczynia powoduje ich ścisłe przyleganie do śródbłonna naczyń mikrokrążenia [4], a następnie przechodzenie przez śródbłonek do przestrzeni okołonaczyniowej. W procesie tym zasadniczą rolę odgrywają również związane z komórkami chemokiny, które – łącząc się z receptorami na leukocytach – współdziałają z wydzielanymi przez eozynofile cytokinami (IL-5 i GM-CSF), wspomagają rozpoczęcie i ukierunkowanie migracji leukocytów oraz przygotowują je do wzmożonego wydzielania mediatorów [5, 6].

Adres do korespondencji: Zakład Profilaktyki Zagrożeń Środowiskowych i Alergologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, ul. Banacha 1a, 02-097 Warszawa

Po pojedynczej próbie prowokacyjnej z alergenem u 30–40% chorych obserwuje się późną fazę reakcji alergicznej, rozpoczynającą się po 4–5 godz. i osiągającą maksymalne nasilenie po 6–12 godz. od podania alergenu. Objawami późnej fazy reakcji alergicznej są zatkanie nosa oraz, w mniejszym stopniu, wyciek wydzieliny z nosa i kichanie [7]. Dla późnej fazy reakcji charakterystyczna jest obecność komórek zapalnych w miejscu reakcji alergicznej [8].

Do niedawna granulocyty obojętnochłonne o jądrze podzielonym uważano za komórki, które osiągnęły końcowe stadium różnicowania, niezdolne do syntezy białek i odgrywające w procesie zapalnym jedynie rolę bierną, przez fagocytozę i uwalnianie preformowanych enzymów i substancji cytotoksycznych. Neutrofile mogą jednak wydzielać różnorodne enzymy, w tym proteazy rozkładające składniki substancji międzykomórkowej (np. MMP-9 i elastazę), wolne rodniki tlenowe oraz cytokiny i chemokiny (np. IL-1 β , TNF- α , IL-6 i IL-8) [9, 10].

Rola neutrofilów w późnej fazie reakcji alergicznej nie jest w pełni poznana [3]. Liczba neutrofilów w popłuczynach z nosa zwiększa się po 3–8 godz. od wykonania próby prowokacyjnej, ale są one obecne także u chorych, u których nie występuje faza późna. Obecność neutrofilów nie jest charakterystyczna dla późnej fazy reakcji alergicznej [11, 12].

Eozynofile mają różne właściwości biologiczne, w tym zdolność uwalniania toksycznych białek zawartych w ziarnistościach (ECP, MBP) [12, 13], wolnych rodników tlenowych, eikozanoidów (leukotrienów cysteinylowych) [14], czynnika aktywującego płytki (*platelet activating factor* – PAF), cytokin zależnych od limfocytów Th2 [14] oraz różnych czynników wzrostu [15]. Wydzielanie mediatorów przez eozynofile może nastąpić w wyniku pobudzenia zarówno przez mechanizmy immunologiczne, jak i nieimmunologiczne [17]. Pobudzone eozynofile mogą zwiększać przepuszczalność naczyń mikrokrążenia [18]. Stwierdzono związek czasowy między zwiększeniem liczby eozynofilów i stężenia eozynofilowego białka kationowego (*eosinophil cationic protein* – ECP) lub silnie zasadowego białka (*major basic protein* – MBP) a rozwojem objawów późnej fazy reakcji po prowokacji alergenem [19]. Stopień ograniczenia drożności nosa w późnej fazie reakcji alergicznej jest proporcjonalny do liczby komórek (zwłaszcza eozynofilów) [20]. Makrofagi tkankowe mogą wydzielać różne substancje, z których wiele odgrywa ważną rolę w procesach uszkodzenia i naprawy tkanek [21].

Makrofagi wytwarzają i wydzielają aktywator plazminogenu i enzymy z grupy metaloproteinaz, które mogą rozkładać różne składniki substancji międzykomórkowej [22]. W wydzielinie z nosa stwierdzano obecność: histaminy, CysLT, białek wydzielanych przez eozynofile (ECP, MBP) i kinin [7].

Cytokiny oraz chemokiny związane z późną fazą reakcji alergicznej

W późnej fazie reakcji alergicznej są uwalniane mediatory działające chemotaktycznie na eozynofile (IL-5, GM-CSF, eotaksyna, RANTES [23, 24]) i neutrofile (IL-8) [25]. Ekspresja mRNA dla cytokin związanych z limfocytami Th2 (zwłaszcza IL-5) koreluje z liczbą pobudzonych eozynofilów (EG2+). Sugeruje to, że gromadzenie i aktywacja limfocytów T CD4+ oraz wydzielanie przez nie *in vivo* cytokin związanych z limfocytami Th2 przyczynia się do rozwoju późnej fazy reakcji alergicznej w błonie śluzowej nosa i wiąże się z naciekiem eozynofilów w tkankach [3]. Czynnikiem stymulującym tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (*granulocyte macrophage colony stimulating factor* – GM-CSF) prawdopodobnie zwiększa napływ (a być może także przedłuża czas przeżycia) eozynofilów w późnej fazie reakcji alergicznej [3]. Rodzaj wydzielanych cytokin i chemokin jest jednak bardzo złożony [3]. Po donosowej prowokacji alergenem w błonie śluzowej nosa stwierdzono zwiększenie ilości mRNA dla interleukin 4, 10 i 13 (IL-4, IL-10 i IL-13) [26]. *In vitro* IL-16 silnie oddziałuje chemotaktycznie wobec limfocytów CD4+ i może mieć duże znaczenie dla napływu tych komórek podczas późnej fazy reakcji alergicznej [27]. U chorych uczulonych na pyłek kryptomerii japońskiej (*Cryptomeria japonica*) donosowe podanie rekombinowanej IL-5 powoduje nagromadzenie i degranulację eozynofilów oraz rozwój nadreaktywności nosa na histaminę [28].

Dokładne określenie, które z komórek wydzielają wymienione cytokiny i chemokiny, wymaga dalszych badań, ale wstępne dane wskazują, że najważniejszym źródłem (przynajmniej na podstawie oznaczeń mRNA) są limfocyty T [15]. Część badaczy uważa, że istotny wydaje się też udział mastocytów [15, 29]. Chemokina β syntetyzowana przez limfocyty T (*regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted* – RANTES) jest uwalniana głównie przez makrofagi obecne w błonie śluzowej [30].

Mechanizmy naciekania komórek zapalnych oraz rola cząsteczek przylegania komórkowego

Charakterystyczną cechą późnej fazy reakcji alergicznej są nacieki z komórek zapalnych w błonie śluzowej nosa. Nacieki eozynofilów są wynikiem zarówno napływu dojrzałych eozynofilów, jak i proliferacji komórek prekursorowych. Podczas napływu komórek do tkanek objętych procesem zapalnym kluczowe znaczenie ma przedostawanie się komórek z krwi przez nabłonek do warstwy podśluzówkowej. Donosowa próba prowokacyjna z alergenem zwiększa ekspresję na komórkach nabłonka cząsteczek przylegania typowych dla komórek śródbłonka [31]. Powoduje także wydzielanie rozpuszczalnej międzykomórkowej cząsteczki adhezyjnej 1 (*soluble intercellular adhesive molecule-1* – sICAM-1), stwierdzanej w wydzielinie z nosa [32].

Przeżycie komórek zapalnych w miejscu reakcji alergicznej zależy od tego, czy zachodzi apoptoza. Liczne bada-

nia przeprowadzono w przebiegu astmy, niewiele jest natomiast danych dotyczących nieżyty nosa [3].

Zjawisko uwrażliwiania

Przebieg donosowej próby z alergenem różni się od naturalnego przebiegu choroby podczas okresu pylenia, ponieważ u chorych, którzy są narażeni na trwający kilka dni lub tygodni kontakt z alergenem, rozwijają się zaawansowane zmiany zapalne i nieswoista nadreaktywność błony śluzowej nosa. Podczas pojedynczej próby prowokacyjnej z alergenami pyłku roślin konieczna do wywołania objawów liczba ziaren pyłku jest dużo większa niż wdychana w trakcie okresu pylenia [7]. W 1968 r. Connell [33] zasugerował, że donosowa próba prowokacyjna z alergenem może uwrażliwiać błonę śluzową. Przeprowadzając następujące po sobie próby prowokacyjne, zaobserwował on, że liczba ziaren pyłku koniecznych do spowodowania dodatniego wyniku kolejnej próby była 10–100 razy mniejsza, jeżeli próbę przeprowadzono na drugi dzień. Efekt ten określił jako zjawisko uwrażliwiania (*priming effect*). Nie obserwuje się go, gdy próby prowokacyjne wykonuje się w odstępach tygodniowych. W chwili dokonania tego ważnego odkrycia jego mechanizm był jeszcze mało zrozumiały. Obecnie uważa się, że zjawisko uwrażliwiania jest spowodowane przez naciek eozynofili i komórek metachromatycznych, będący następstwem poprzedniej próby prowokacyjnej [34]. Ten proces zapalny ulega wygaszeniu po upływie około tygodnia. Możliwe również, że komórki biorące udział w procesie zapalnym są uwrażliwiane przez cytokiny lub mediatory – taki efekt wykazano *in vitro* dla bazofilów i eozynofili [35]. Zjawisko uwrażliwiania można naśladować, powtarzając próby prowokacyjne z użyciem małych dawek alergenu. W trakcie takich prób, mimo nieobecności lub jedynie niewielkiego nasilenia objawów klinicznych, obserwuje się zwiększenie stężenia mediatorów wydzielanych przez eozynofile w popłuczynach z nosa [36].

U podłoża zjawiska uwrażliwiania mogą leżeć również inne mechanizmy. Dokonując oceny przepływu krwi przez drobne naczynia, można stwierdzić zmiany przepływu w naczyniach błony śluzowej nosa. Wykazano zwiększony przepływ krwi u chorych z dodatnim wynikiem próby prowokacyjnej z alergenami pyłku brzozy. Mimo zastosowania takich samych dawek alergenu pyłku, zwiększenie przepływu było większe niż przed sezonem pylenia. Wskazuje to na obecność zjawiska uwrażliwiania na poziomie naczyń oporowych [37]. Zjawisko uwrażliwiania błony śluzowej nosa wyjaśnia znaczenie okresu pylenia dla chorych uczulonych na pyłki traw i drzew [3].

Przeżycie komórek zapalnych w tkankach dróg oddechowych

Czas przeżycia komórek zapalnych w błonie śluzowej nosa zależy od czynników egzogennych. W prawidłowych

warunkach apoptoza (zaprogramowana śmierć) komórek zapalnych ogranicza uszkodzenie tkanek przez reakcję zapalną i sprzyja ustępowaniu, a nie nasilaniu stanu zapalnego [38]. W alergicznym nieżycie nosa i astmie przeżycie aktywowanych komórek zapalnych, takich jak eozynofile, jest znacznie wydłużone wskutek zmniejszonej apoptozy [39]. Liczne cytokiny, chemokiny i niektóre składniki substancji międzykomórkowej, których ekspresja w drogach oddechowych u chorych na astmę jest nadmierna, przedłużają czas przeżycia komórek zapalnych [40]. Przypuszcza się, że podobnie jest u chorych na alergiczny nieżyt nosa.

Piśmiennictwo

1. Sehmi R, Howie K, Sutherland DR, et al. Increased levels of CD34+ hemopoietic progenitor cells in atopic subjects. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996; 15: 645-55.
2. Denburg JA. The origins of basophils and eosinophils in allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102: 74-6.
3. Bousquet J, Van Cauwenberge P, Khaltaev N; Aria Workshop Group; World Health Organization. Allergic rhinitis and its impact on asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108 (5 Suppl): 147-334.
4. Montefort S, Roche WR, Howarth PH, et al. Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and endothelial leucocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) expression in the bronchial mucosa of normal and asthmatic subjects. *Eur Respir J* 1992; 5: 815-23.
5. Sedgwick JB, Quan SF, Calhoun WJ, Busse WW. Effect of interleukin-5 and granulocyte-macrophage colony stimulating factor on *in vitro* eosinophil function: comparison with airway eosinophils. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96: 375-85.
6. Teixeira MM, Wells TN, Lukacs NW, et al. Chemokine-induced eosinophil recruitment. Evidence of a role for endogenous eotaxin in an *in vivo* allergy model in mouse skin. *J Clin Invest* 1997; 100: 1657-66.
7. Naclerio RM, Proud D, Togias AG, et al. Inflammatory mediators in late antigen-induced rhinitis. *N Engl J Med* 1985; 313: 65-70.
8. Volovitz B, Welliver RC, De-Castro G, et al. The release of leukotrienes in the respiratory tract during infection with respiratory syncytial virus: role in obstructive airway disease. *Pediatr Res* 1988; 24: 504-7.
9. Malech HL, Gallin JI. Current concepts: immunology. Neutrophils in human diseases. *N Engl J Med* 1987; 317: 687-94.
10. Fantone JC, Ward PA. Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte-dependent inflammatory reactions. *Am J Pathol* 1982; 107: 395-418.
11. Pipkorn U. Hay fever: in the laboratory and at natural allergen exposure. *Allergy* 1988; 8: 41-4.
12. Iliopoulos O, Baroody FM, Naclerio RM, et al. Histamine-containing cells obtained from the nose hours after antigen challenge have functional and phenotypic characteristics of basophils. *J Immunol* 1992; 148: 2223-8.
13. Klementsson H. Eosinophils and the pathophysiology of allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy* 1992; 22: 1058-64.
14. Busse WW, Sedgwick JB. Eosinophil eicosanoid relations in allergic inflammation of the airways. *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res* 1994; 22: 241-9.
15. Ying S, Durham SR, Corrigan CJ, et al. Phenotype of cells expressing mRNA for TH2-type (interleukin 4 and interleukin 5)

- and Th1-type (interleukin 2 and interferon gamma) cytokines in bronchoalveolar lavage and bronchial biopsies from atopic asthmatic and normal control subjects. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995; 12: 477-87.
16. Venge P, Hakansson L, Peterson CG. Eosinophil activation in allergic disease. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1987; 82: 333-7.
 17. Capron M. Eosinophils: receptors and mediators in hypersensitivity. *Clin Exp Allergy* 1989; 19 (Suppl 1): 3-8.
 18. Collins DS, Dupuis R, Gleich GJ, et al. Immunoglobulin E-mediated increase in vascular permeability correlates with eosinophilic inflammation. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: 677-83.
 19. Linder A, Venge P, Deuschl H. Eosinophil cationic protein and myeloperoxidase in nasal secretion as markers of inflammation in allergic rhinitis. *Allergy* 1987; 42: 583-90.
 20. Pastorello EA, Riario-Sforza GG, Incorvaia C, et al. Comparison of rhinomanometry, symptom score, and inflammatory cell counts in assessing the nasal late-phase reaction to allergen challenge. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 93: 85-92.
 21. Werb Z, Underwood J, Rappolee D. The role of macrophage-derived growth factors in tissue repair. In: Van Furth R (ed.). *Mononuclear phagocytes*. Dordrecht, Kluwer Academic Press, 1992; 404-9.
 22. Senior RM, Connolly NL, Cury JD, et al. Elastin degradation by human alveolar macrophages. A prominent role of metalloproteinase activity. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139: 1251-6.
 23. Durham SR, Ying S, Varney VA, et al. Cytokine messenger RNA expression for IL-3, IL-4, IL-5, and granulocyte/macrophage-colony-stimulating factor in the nasal mucosa after local allergen provocation: relationship to tissue eosinophilia. *J Immunol* 1992; 148: 2390-4.
 24. Sim TC, Grant JA, Hilsmeier KA, et al. Proinflammatory cytokines in nasal secretions of allergic subjects after antigen challenge. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 339-44.
 25. Kleinjan A, Dijkstra MD, Boks SS, et al. Increase in IL-8, IL-10, IL-13, and RANTES mRNA levels (in situ hybridization) in the nasal mucosa after nasal allergen provocation. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 441-50.
 26. Ghaffar O, Laberge S, Jacobson MR, et al. IL-13 mRNA and immunoreactivity in allergen-induced rhinitis: comparison with IL-4 expression and modulation by topical glucocorticoid therapy. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997; 17: 17-24.
 27. Laberge S, Durham SR, Ghaffar O, et al. Expression of IL-16 in allergen-induced late-phase nasal responses and relation to topical glucocorticosteroid treatment. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 100: 569-74.
 28. Terada N, Konno A, Tada H, et al. The effect of recombinant human interleukin-5 on eosinophil accumulation and degranulation in human nasal mucosa. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 90: 160-8.
 29. Saito H, Asakura K, Ogasawara H, et al. Topical antigen provocation increases the number of immunoreactive IL-4-, IL-5- and IL-6-positive cells in the nasal mucosa of patients with perennial allergic rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol* 1997; 114: 81-5.
 30. Rajakulasingam K, Hamid Q, O'Brien F, et al. RANTES in human allergen-induced rhinitis: cellular source and relation to tissue eosinophilia. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 696-703.
 31. Ciprandi G, Pronzato C, Ricca V, et al. Allergen-specific challenge induces intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1 or CD54) on nasal epithelial cells in allergic subjects. Relationships with early and late inflammatory phenomena. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 1653-9.
 32. Campbell A, Chanal I, Czarlewski W, et al. Reduction of soluble ICAM-1 levels in nasal secretion by H1-blockers in seasonal allergic rhinitis. *Allergy* 1997; 52: 1022-5.
 33. Connell J. Quantitative intranasal pollen challenges. II. Effect of daily pollen challenge, environmental pollen exposure and placebo challenge on the nasal membrane. *J Allergy* 1968; 41: 123-9.
 34. Wachs M, Proud D, Lichtenstein LM, et al. Observations on the pathogenesis of nasal priming. *J Allergy Clin Immunol* 1989; 84: 492-501.
 35. Takafuji S, Bischoff SC, De-Weck AL, Dahinden CA. Opposing effects of tumor necrosis factor-alpha and nerve growth factor upon leukotriene C4 production by human eosinophils triggered with N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine. *Eur J Immunol* 1992; 22: 969-74.
 36. Roquat A, Ihre E, van Hage-Hamsten M, et al. Allergen-induced inflammation in the nose: a comparison of acute and repeated low-dose allergen exposure. *Allergy* 1996; 51: 42-8.
 37. Juliusson S, Bende M. Priming effect of a birch pollen season studied with laser Doppler flowmetry in patients with allergic rhinitis. *Clin Allergy* 1988; 18: 615-8.
 38. White E. Life, death, and the pursuit of apoptosis. *Genes Dev* 1996; 10: 1-15.
 39. Woolley KL, Gibson PG, Carty K, et al. Eosinophil apoptosis and the resolution of airway inflammation in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 237-43.
 40. Vignola AM, Chanez P, Chiappara G, et al. Evaluation of apoptosis of eosinophils, macrophages, and T lymphocytes in mucosal biopsy specimens of patients with asthma and chronic bronchitis. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103: 563-73.