

De betekenis van het eosinophilic cationic protein (ECP) bij patiënten met allergische astma

R.W. JANSEN¹, L. van de MAAS² en I. VERMES¹

Bij de pathogenese van allergische astma spelen naast de bronchiale hyperreactiviteit (BHR) de eosinofiele granulocyten (eo's) een belangrijke rol (1-3). In de afgelopen jaren is veel onderzoek verricht naar de bijdrage van de eosinofiele inflammatoire component aan de uiteindelijke broncho-obstructie. De achterliggende gedachte hierbij is om middels het meten van serum ECP, één van de eiwitten in de excretie-granula van eosinofiele granulocyten, het effect van corticosteroid-therapie op het ontstekingsproces te kunnen volgen (4-6). In dit artikel wordt ingegaan op de achtergronden van de ECP-meting. Tevens zullen enkele resultaten getoond worden van een klinische studie met allergische astma patiënten, waarbij het serum ECP en de longfunctieparameters gedurende een periode van een jaar gemeten zijn om zo het effect van corticosteroid-therapie te volgen.

Allergische astma

Astma is een chronische inflammatoire luchtwegaandoening met reversibele bronchoconstrictie. Er kan grofweg een onderverdeling gemaakt worden in infectieuze astma, waarbij de reactie van de neutrofiële granulocyt op een infectieus agens centraal staat en allergische astma, waarbij voornamelijk de eo's op de voorgrond staan. Deze allergische astma werd vroeger dan ook de chronisch desquamatieve eosinofiele bronchitis genoemd. De bronchoconstrictie wordt veelal d.m.v. β 2-mimetica zoals salbutamol (bv Ventolin^R inhalator) gecoupeerd, terwijl de allergische en infectieuze onstekings-reacties met respectievelijk corticosteroiden en antibiotica behandeld worden. Het effect van de genoemde behandeling wordt gewoonlijk gevolgd door verschillende longfunctieparameters zoals het forced expiratoire volume in één seconde (FEV1) en de vitale capaciteit (VC) te meten. Deze parameters zijn nuttig, maar hebben als belangrijke nadelen dat er een hoge mate van coöperativiteit van de patiënt noodzakelijk is (bij kinderen vaak een probleem) en dat ze, bij recent gebruik van bronchusverwijders, geen betrouwbare informatie geven.

Aangezien de eosinofiele granulocyten een belangrijke bijdrage leveren aan het pathologisch proces in de longen van allergische-astmapatiënten, werd recent gesuggereerd dat het serum ECP, als maat voor

de in vivo activatie van de eosinofiel, informatie geeft over het onderliggende allergische inflammatoire proces (5).

ECP

ECP is een sterk positief geladen zink bevattend eiwit met een molecuulgewicht van 21-25 kD. Het wordt samen met andere eiwitten zoals eosinophilic derived neurotoxin (EDN) ook wel eosinophilic protein X (EPX) genoemd en major basic protein (MBP), na stimulatie uit de granula van geactiveerde eosinofielen vrijgemaakt. ECP heeft een antiparasitaire activiteit en door de ribonuclease-activiteit werkt het ook bactericidaal (6). Naast deze gunstige effecten, zijn het ECP en andere uit de granula afkomstige eiwitten echter schadelijk voor het omliggende (long)weefsel, doordat ze de motiliteit van de trilharen verminderen en direct toxisch zijn voor epitheelcellen (7).

Daarenboven zijn geactiveerde eo's schadelijk voor het omliggende longweefsel door de uitscheiding van *de novo* gesynthetiseerde mediators en actieve zuurstofradicalen (8).

Allergische astma en ECP

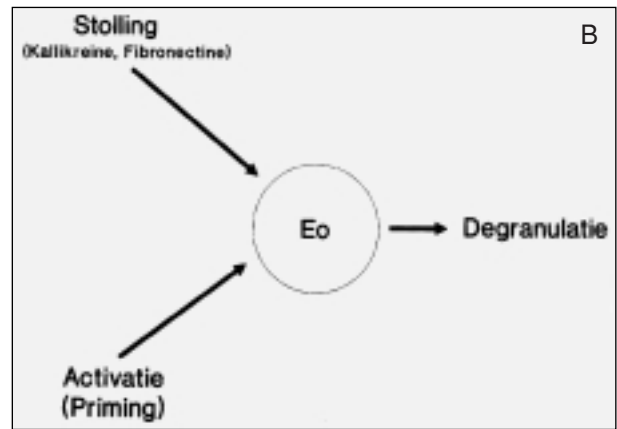
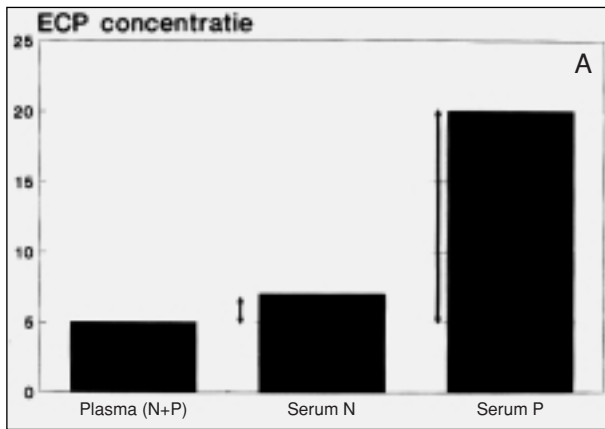
Bij de eosinofiele infiltratie van de allergisch astmatische long, spelen achtereenvolgens de volgende zaken een rol:

1. proliferatie van eo's onder invloed van door de T-helper-2 (Th2) cellen gesynthetiseerde interleukine 5 (IL5) en granulocyt colony stimulating factor (G-CSF)
2. preactivatie (priming) van de eo's door o.a. IL3 en IL5
3. recruitment uit de circulerende pool door adhesie en diapedese onder invloed van respectievelijk adhesiemoleculen en chemotactische factoren
4. degranulatie van o.a. ECP onder invloed van locale degranulatie stimuli.

Aangezien ECP één van de eindproducten van de bovenstaande cascade is, lijkt het voor de hand te liggen deze parameter te gebruiken als maat voor het inflammatoire proces. Echter, het in de long, uit geactiveerde eo's, vrijgemaakte ECP is in het perifere bloed niet te meten omdat het door het kationische karakter sterk hecht aan alle negatieve membraanoppervlaktes. Recent publiceerden Venge en anderen (3-5) dat er bij gezonde proefpersonen geen verschil is tussen de hoeveelheid ECP in plasma en serum. Bij allergische astma patiënten daarentegen vonden zij een significant hogere concentratie ECP in serum dan in plasma (figuur 1A). Het bleek dat mediators, zoals kalikreïne, die bij de stolling vrijkomen, in staat zijn

Klinisch Chemisch Laboratorium¹ en Afdeling Longgeneeskunde², Medisch Spectrum Twente, Enschede

Correspondentie: Dr R.W. Jansen, Klinisch Chemisch Laboratorium, Medisch Spectrum, Postbus 50.000, 7500 KA Enschede.



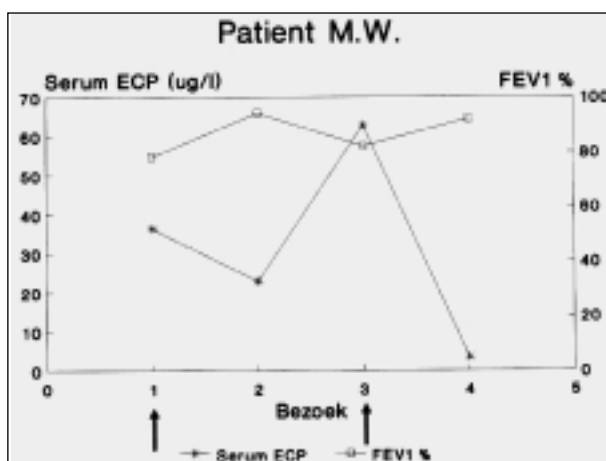
Figuur 1. A: Theoretisch verschil tussen serum ECP bij gezonde vrijwilligers (N) en allergische astma patiënten (P). B: Hypothetisch schema van degranulatie van ECP tijdens in vitro stolling (overgenomen uit referentie 9).

om ECP vrij te maken uit geactiveerde eo's van allergische astmapatiënten en niet uit eo's van gezonde proefpersonen (figuur 1B). Zodoende zou het serum ECP wellicht een maat zijn voor de activatiestatus van eo's en zou deze parameter gebruikt kunnen worden om een beeld te krijgen van de inflammatoire component van het allergisch obstructieve proces.

Klinische studie

Bij 20 allergische astmapatiënten, die gedurende een jaar eenmaal per 2 maanden de longarts bezochten, werden naast het lichamelijk onderzoek ook de FEV1 als percentage van de VC (FEV1%) en het serum ECP gemeten met behulp van het Pharmacia Cap System.

Er werd voor de groep als geheel geen correlatie gevonden, tussen de ECP waarden en het FEV1%. Wanneer echter de afzonderlijke patiënten longitudinaal gevolgd werden, bleek bij een groot aantal patiënten tijdens een klinische exacerbatie het FEV1% te dalen en tegelijkertijd het serum ECP te stijgen (figuur 2). Daarentegen was er ook een aantal patiënten waarbij dit niet het geval was. Deze laatste groep patiënten reageerden niet op een verhoging van de corticoste-



Figuur 2. Typisch voorbeeld van het ECP(*) en FEV1%(□)-verloop bij een patiënt die goed op corticosteroiden reageert. Pijlen geven een klinische exacerbatie aan, waarna de dosis corticosteroiden werd verhoogd.

roïd dosis. Echter, in de groep waarbij de ECP waarden wel (invers) correleerden met het FEV1%, trad onder invloed van corticosteroiden in alle gevallen een duidelijke verbetering van het FEV1% op en daalde dienovereenkomstig het ECP. Het is verleidelijk hieruit te concluderen dat bij de non-responders de verminderde longfunctie geïnduceerd wordt door niet inflammatoire oorzaken.

We vonden bij de afzonderlijke patiënten ook tijdens een stabiele fase een grote variatie in de serum ECP waarden. Een verklaring hiervoor zou kunnen zijn, dat bij deze assay de in vitro stolling de definitieve degranulatiestimulus is. Zelfs wanneer de stoltijd en stoltemperatuur gestandaardiseerd zijn op 1 uur resp. 20 °C, blijft dit een bron van variatie. Het moet nog getest worden of het in vitro toedienen van een receptor gemedieerde definitieve degranulatie-stimulus hier uitkomst zou kunnen bieden.

Conclusie

Bij allergische astma wordt de broncho-obstructie, naast de eosinofiele inflammatoire component, mede bepaald door de mate van bronchiale hyperreactiviteit (BHR). Aangezien de bronchoconstrictie veelal met β_2 -mimetica en het inflammatoire proces met corticosteroiden behandeld wordt, lijkt het interessant het onstekingsproces middels ECP metingen te kwantificeren. Op geleide hiervan zou wellicht per patiënt de dosis corticosteroiden aangepast kunnen worden.

Literatuur

1. Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY, Barnéon G, Ghavanian N, Enander I, Venge P, et al. Eosinophilic inflammation in asthma. *New Eng J Med* 1990; 323: 1033-1039.
2. Holgate ST, Djukanovic R, Wilson J, Roche WR, Howard PH. Inflammatory processes and bronchial Hyperresponsiveness. *Clin and Exp Allergy* 1991; 21(Suppl.): 30-60.
3. Holgate ST, Roche WR, Church MK. The role of the eosinophil in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1991; 143: 66-70.
4. Dahl R, Venge P, Olsson I. Variation of blood eosinophils and eosinophilic cationic protein in serum in patients with bronchial asthma. *Allergy* 1978; 33: 211.
5. Sugai T, Sakiyama Y, Matumoto S. Eosinophilic cationic protein in peripheral blood of pediatric patients with allergic diseases. *Clin Exp Allergy* 1992; 22: 275-281.

6. Zimmerman B, Enander I, Zimmerman RS, Ahlsted S. Asthma in children less than 5 years of age: Eosinophils and serum levels of the eosinophil proteins ECP and EPX in relation to atopy and symptoms. *Clin and Exp Allergy* 1994; 24: 149-155.
7. Motojima S, Frigas E, Loegering DA, Gleich GJ. Toxicity of eosinophil cationic proteins for Guinea pig tracheal epithelium in vitro. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139: 801-805.
8. Hälgren R, Samuelsson T, Venge P, Modig J. Eosinophil activation in the lung is related to lung damage in adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135: 639-642.
9. Venge P. Serum measurements of eosinophil cationic protein (ECP) in bronchial asthma. *Clin and Exp Allergy* 1993; 23: 3-7.

Summary

The meaning of eosinophilic cationic protein (ECP) determinations in patients with allergic asthma. Jansen RW, Maas L van de, Vermes I. Ned Tijdschr Klin Chem 1996; 21: 211-213. Bronchial hyperreactivity and eosinophilic inflammation play a pivotal role in the pathogenesis of allergic asthma. In recent years much attention was focussed on the use of serum ECP measurements to quantitate the inflammatory component of the asthmatic process in order to monitor the corticosteroid therapy. This paper deals with the rationale of serum ECP measurements and shows the results of a clinical trial in which the effect of corticoid therapy on serum ECP and lung function of allergic asthmatic patients were investigated.

Keywords: allergic asthma; eosinophilic cationic protein (ECP); corticosteroid therapy

Ned Tijdschr Klin Chem 1996; 21: 213-216

IgE, eosinophils and mast cells in helminth infections

M. YAZDANBAKHSH

Helminth parasites are a cause of extensive morbidity in most tropical countries. Considering that over one billion people are infected, these parasites are a serious burden on human health. Generally, helminths display a complex life cycle with several developmental stages that migrate through or reside in distinct organs. Intestinal helminths might be restricted to the gut, such as *Trichuris* or *Enterobius* or have tissue migrating phase such as *Ascaris* and *Strongyloides*. Other helminths of importance to humans are schistosomes that reside in the abdominal veins and filariae which nest themselves in the lymphatics (*Brugia malayi* or *Wuchereria bancrofti*), the skin (*Onchocerca volvulus*) or migrate through the connective tissues throughout the body (*Loa loa*). The hallmark of helminth infections, in immunological terms, is elevated IgE and eosinophilia. Total IgE levels can exceed those seen in asthmatic or atopic dermatitis patients (figure 1), and eosinophil numbers can range from moderate to extremely high (over $40 \cdot 10^9/l$). Intestinal helminth infections are associated with mast cell hyperplasia, as reported in experimental infections (1); colonoscopy of infected individuals has confirmed the presence of mast cells at sites of inflammation (2). Histological examination of the tissues in elephantiasis limbs (caused by either *Wuchereria bancrofti* or *Brugia malayi*) has shown the presence of mast cells in the inflammatory mass around degenerating worms. The question that has

been asked over and over again is whether IgE, eosinophils and mast cells that are closely associated with helminth infections play a role in protective immune responses.

Human studies

Chronic infections

It is now a well accepted concept that T cell cytokine profiles can be classified into two opposing poles of a spectrum; TH1 cells that release $IFN\gamma$ and are key regulators of cell mediated immunity and TH2 cells that elaborate IL-4 and IL-5, cytokines essential for IgE and eosinophilia respectively (3). In keeping with the high IgE and elevated eosinophils observed in helminth infections, there is an abundance of T cells capable of releasing IL-4 and IL-5 in patients with chronic schistosomiasis or filariasis (4,5). Thus at the polyclonal level both IL-4 and IL-5 are associated with increased IgE and eosinophils. Next, the parasite specific responses will be discussed.

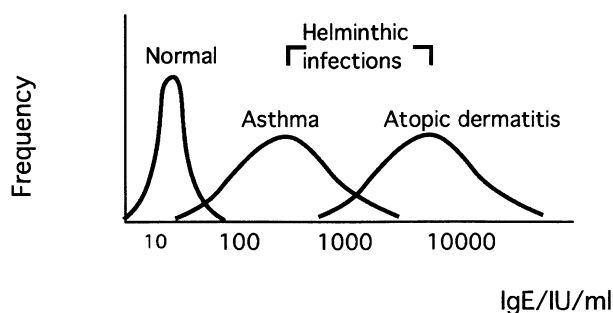


Figure 1. Serum total IgE levels in allergic patients and helminth-infected individuals.

Department of Parasitology, University of Leiden, Leiden

Address for correspondence: Dr. M. Yazdanbakhsh, Department of Parasitology, University of Leiden, Postbus 9605, 2300 RC Leiden.