

Waldemar Lutz¹
Maciej Tarkowski¹
Cezary Pałczyński²

PATOGENEZA ASTMY ZAWODOWEJ WYWOŁANEJ PRZEZ CZYNNIKI O MAŁEJ MASIE CZĄSTECZKOWEJ: INDUKCJA ZAPALENIA I REMODELINGU OSKRZELI

PATHOGENESIS OF OCCUPATIONAL ASTHMA INDUCED BY LOW-MOLECULAR-WEIGHT SENSITIZERS: INDUCTION OF BRONCHIAL INFLAMMATION AND REMODELING

¹ Z Zakładu Immunotoksykologii

² Z Kliniki Chorób Zawodowych

Instytutu Medycyny Pracy im. prof. dra med. J. Nofera w Łodzi

STRESZCZENIE W opracowaniu przedstawiono astmogenne związki chemiczne o małej masie cząsteczkowej, najczęściej występujące w środowisku zawodowym oraz podstawowe mechanizmy oddziaływania tych związków na komórki związane z układem odpornościowym dróg oddechowych. Szczególną uwagę zwrócono na mechanizmy powstawania alergicznej reakcji zapalnej w oskrzelach.

Zapalenie alergiczne wywołane przez czynnik o małej masie cząsteczkowej doprowadza do utrwalonych zmian strukturalnych i czynnościowych w oskrzelach, które określa się mianem „remodelingu”. Zmiany anatomiczne w substancji pozakomórkowej oskrzeli obejmują zarówno błonę podstawną jak i przestrzeń śródmiąższową. Szczególną rolę w procesie remodelingu przypisuje się proteinazom (metaloproteinazom) oraz ich inhibitorom, produkowanym przez makrofagi, eozynofile, neutrofile oraz komórki nabłonka.

Apoptoza komórek uczestniczących w zapaleniu odgrywa istotną rolę w jego wygaszaniu. Natomiast śmierć komórek w mechanizmie martwicy przyczynia się do podtrzymania zapalenia. Sygnałem, który podtrzymuje proces zapalny jest białko HMGB1, uwalniane przez komórki ginące w mechanizmie martwicy. Komórki ginące poprzez apoptozę (m.in. makrofagi i eozynofile) nie uwalniają białka HMGB-1. Med. Pr. 2003; 54 (4): 369–376

SŁOWA KLUCZOWE: astmogeny o małej masie cząsteczkowej, astma zawodowa, remodeling, metaloproteinazy, białko HMGB1

ABSTRACT The paper reviews the literature reports on low-molecular-weight (LMW) sensitizers that are commonly encountered in the work environment as well as on the major mechanisms responsible for their effect on the immune cells of the respiratory tract. Chronic allergic inflammation induced by LMW sensitizers leads to persistent abnormalities in the bronchial structure and function that are referred to as “modeling”. These comprise pathomorphological changes in both the basal membrane and interstitial matrix. In remodeling, metalproteinases and their inhibitors produced by macrophages, eosinophils, neutrophils and epithelial cells are belied to play a specific role. An important factor that contributes to an inhibition of the inflammatory process is the apoptosis of cells participating in this process. However, death of these cells due to necrosis sustains the inflammatory process. HMGB 1 protein released from dying cells is a signal that sustains the inflammation. Cells dying as a result of apoptosis (e.g., macrophages and eosinophils) do not release HMGB 1 protein. Med Pr 2003; 54 (4): 369–376

KEY WORDS: low-molecular-weight sensitizers, occupational asthma, remodeling, metaloproteinases, HMGB1 protein

Nadesłano: 20.01.2003

Zatwierdzono: 23.06.2003

Adres autorów: Św. Teresy 8, 90-950 Łódź, e-mail: lutz@imp.lodz.pl

© 2003, Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera w Łodzi

WSTĘP

Zawodowa astma oskrzelowa jest szczególną formą nadwrażliwości alergicznej, występującej w drogach oddechowych, będącą skutkiem narażenia na alergen typowe dla środowiska pracy (1). Wyróżnia się dwa typy zawodowej astmy oskrzelowej – immunologiczny oraz nieimmunologiczny. Typ astmy o podłożu immunologicznym (astma alergiczna) wywołany przez związki chemiczne o dużej i małej masie cząsteczkowej występuje po okresie utajenia i jest na ogół poprzedzony zespołem zwiastunów. W tym typie astmy wyróżnia się astmę o udowodnionym IgE-zależnym mechanizmie immunologicznym (astma alergiczna IgE-zależna) oraz astmę bez zidentyfikowanego mechanizmu IgE-zależnego lub IgE-niezależnego (astma alergiczna IgE-niezależna). Astma niealergiczna jest wywoływana przez związki chemiczne o małej masie cząsteczkowej, przejawiające działanie drażniące, które pojawiają się w wysokich stężeniach w drogach oddechowych. Przypuszcza się, że może ona także wystąpić u osób przewlekle ekspozowanych na niskie stężenia tych związków. Astma niealergiczna określana jako tzw. zespół reaktywnej dysfunkcji dróg oddechowych (RADS – Reactive

Airways Dysfunction Syndrom) rozwija się szybko, najpóźniej 24 h po narażeniu (2).

Znane jest kilka tysięcy związków chemicznych o małej masie cząsteczkowej (poniżej 1 kDa), występujących w miejscu pracy. Z tej dużej liczby tylko około 100 wywołuje zawodową astmę alergiczną (3). To, że tylko niektóre związki chemiczne mogą wywoływać reakcję nadwrażliwości w drogach oddechowych, analogicznie jak w przypadku związków przejawiających właściwości kancerogenne czy hepatotoksyczne, determinowane jest przez ich strukturę chemiczną (4). Należy jednak pamiętać, że struktura chemiczna jest tylko jedną z wielu determinant wystąpienia nadwrażliwości alergicznej. Takie czynniki jak wrażliwość osobnicza, wielkość ekspozycji oraz czas jej trwania również w istotny sposób przyczyniają się do wystąpienia takiej nadwrażliwości (5).

ASTMOGENY O MAŁEJ MASIE CZĄSTECZKOWEJ

Jedną z podstawowych właściwości związków chemicznych o małej masie cząsteczkowej, wywołujących zawodową



astmę alergiczną, jest ich zdolność do tworzenia trwałych, kowalencyjnych lub koordynacyjnych wiązań z białkami, analogicznie jak w przypadku alergenów kontaktowych (6). Takie właściwości mogą posiadać niektóre związki chemiczne nieorganiczne jak i organiczne (4).

Niektóre związki nieorganiczne, zawierające metale w swojej strukturze chemicznej, mogą ujawniać działanie astmogenne za pośrednictwem IgE, zależnego mechanizmu immunologicznego, odpowiadającego nadwrażliwości typu I. Metale te umiejscowione są w grupach Vb, VIb i VIIIb okresowego układu pierwiastków i określa się je nazwą metali przejściowych. Metalami przejściowymi o właściwościach astmogennych są platyna, nikiel, kobalt, chrom i wanad (3). Wszystkie one w stanie podstawowym mają tendencję do uzupełniania orbitali elektronowych d na drodze tworzenia wiązań koordynacyjnych z szerokim spektrum różnych ligandów. Mogą nimi być jony lub obojętne cząsteczki dysponujące parą elektronów dostępną dla przejścia przez metal. Kiedy metal przejściowy jest bardzo silnie związany z ligandem jest mało prawdopodobne, by ujawnił on swoje właściwości antygenowe. Wynika to z faktu, że nie jest on dostępny dla reaktywnych grup aminokwasów obecnych w białkach i nie może utworzyć z nimi kompleksów antygenowych. Jeśli wiązanie metal przejściowy – ligand jest słabe, ligand może oddysocjować od metalu i powstają warunki, aby mógł on być zastąpiony przez ugrupowanie nukleofilne obecne w cząsteczce białka. Powstaje kompleks antygenowy metal przejściowy – białko. Tak więc sama obecność metalu przejściowego w organizmie nie jest wystarczająca, aby mógł on ujawnić swoje właściwości antygenowe, uruchamiające reakcję immunologiczną. Istotne jest w jakiego rodzaju połączeniu występuje ten metal. Czy jest on dostępny dla reaktywnych ugrupowań białka oraz, czy te ugrupowania białkowe silniej wiążą metal niż ligand. Np. kation platyny, obecny w koordynacyjnym kompleksie anionowym heksachloroplatyny, jest dostępny dla δ -aminowych grup lizyny, występujących w białku i może z nim utworzyć kompleks antygenowy. W związkach platyny, w których metal ten związany jest z azotem, taka reakcja wymiany nie występuje i związki te nie mają właściwości astmogennych w warunkach ekspozycji zawodowej (7,8).

Niektóre z przejściowych metali astmogennych, takie jak chrom i nikiel, powodują wystąpienie nie tylko nadwrażliwości IgE zależnej (typu I), ale mogą przyczynić się do wystąpienia (również u tych samych osób) objawów odpowiadających nadwrażliwości typu IV. Wskazuje to, że ta sama struktura chemiczna zawierająca metal przejściowy może aktywować dwie różne klasy limfocytów pomocniczych (Th) (9,10).

Stosunkowo liczna grupa niskocząsteczkowych astmogenów organicznych zawiera w strukturze swojej cząsteczki potencjalnie kationowe (oddające elektrony) atomy azotu. W tej grupie związków azotowych można wyróżnić aminy alifatyczne oraz aminy aromatyczne (homo- i heterocykliczne). W grupie astmogenów zawierających azot, szczególną uwagę z racji swojego wysokiego potencjału astmogennego

zwracają izocyjaniany, zarówno alifatyczne jak i aromatyczne (11). Cechą charakterystyczną wszystkich astmogenów, mających w swojej strukturze chemicznej atomy azotu jest to, że zawierają one co najmniej dwa takie atomy, np. etylenodiamina, azodikarbonamid, piperazyna, p-fenyldiamina, tolueno 2,4-diizocyjanian, hydrazyd kwasu izonikotynowego, hydralazyna. Wymienione aminy mają charakter cząsteczek bifunkcyjnych. Atomy azotu w grupach funkcjonalnych muszą być tak umiejscowione w strukturze cząsteczki, aby miały możliwość wchodzenia w reakcję z reaktywnymi ugrupowaniami aminokwasów, tworzących łańcuch polipeptydowy białka. Monofunkcyjne związki azotowe, np. etyloamina, piperidyna, anilina, zawierają tylko jeden atom azotu i nie mają właściwości astmogennych (3). Mogą one jednak indukować syntezę swoistych immunoglobulin IgE oraz wykazywać znaczny potencjał drażniący i toksyczny. W przypadku monoizocyjanianów udało się wywołać na modelu zwierzęcym reakcję alergiczną (12), ale tylko di- lub polizocyjaniany okazały się astmogenne dla człowieka (13).

Zwraca się również uwagę na potencjalne własności astmogenne tzw. barwników reaktywnych. Obejmują one bardzo heterogenną grupę niskocząsteczkowych związków, zawierających w swojej strukturze chemicznej więcej niż jedną grupę aminową lub azową (14). W przypadku niektórych barwników wykazano, że ich wiązanie z białkami np. z ϵ -grupą lizyny obecnej w albuminie, może się odbywać z udziałem wiązania nienasyconego (15). Wskazuje to, że obecność w strukturze chemicznej barwnika reaktywnego dwóch lub większej liczby nukleofilnych atomów azotu, zwłaszcza tych występujących w postaci $C=N$ lub $N=N$, powinna znacznie zwiększać możliwość wywoływania astmy przez ten związek (16).

Stosunkowo dużą i zróżnicowaną chemicznie grupę niskocząsteczkowych astmogenów stanowią związki organiczne zawierające tlen. Ta grupa związków astmogennych obejmuje bezwodniki kwasowe, aldehydy, kwasy żywicne oraz epoksydy.

W kategorii bezwodników kwasowych występują związki uważane za jedną z częstszych przyczyn występowania astmy zawodowej. Właściwości astmogenne wykazywały di- i polibezwodniki kwasowe, jak np. bezwodnik kwasu ftalowego, bezwodnik kwasu trimelitowego. Takich właściwości nie ujawniały monobezwodniki, np. bezwodnik kwasu octowego (5). To potwierdza hipotezę o konieczności wystąpienia w związku chemicznym o właściwościach astmogennych co najmniej dwóch reaktywnych ugrupowań chemicznych. Należy zauważyć, że w dibezwodnikach kwasowych grupy czynne nie są niezależne i reakcja dibezwodnika z białkami zachodzi na drodze reakcji z pojedynczym azotem aminowym obecnym w reszcie aminokwasowej łańcucha polipeptydowego białka. Skutkiem reakcji jest powstanie cyklicznej zasady Schiffa (17,18).

Inną kategorią astmogenów organicznych, zawierających w swojej strukturze tlen, są aldehydy. Jedne z nich wykazują działanie drażniące i uczulające, gdy inne, tylko drażniące.



Dotychczas nie udało się wyjaśnić przyczyn tego zróżnicowania. Nie jest również rozstrzygnięte, dlaczego tylko u części osób narażonych na alergizujące aldehydy dochodzi do uczulenia i jakie są osobnicze czynniki predysponujące do wystąpienia alergii. Rozpatrując aspekt toksycznego oddziaływania aldehydów na tkanki i narządy organizmu ludzkiego należy uwzględnić fakt, że immunotoksyczne właściwości aldehydów zależą w istotny sposób od ich stężenia w komórkach docelowych. W wysokich stężeniach ujawnia się najczęściej ich działanie cytotoksyczne niż atenuujące, natomiast przy niskich stężeniach często występuje immunostymulacja (19). Powszechność narażenia na aldehydy wynika ze stosowania tych związków do produkcji środków odkażających. Najczęściej używa się aldehydu glutarowego i aldehydu glioksalowego, rzadziej aldehydu mrówkowego i aldehydu bursztynowego. Wymienione aldehydy różnią się od siebie długością łańcucha węglowodorowego oraz liczbą grup aldehydowych. Alergiczne reakcje zapalne u zwierząt doświadczalnych uczulonych tylko jednym aldehydem są bardziej nasilone i utrzymują się znacznie dłużej w obecności innych aldehydów (20).

Najprostszy monoaldehyd, jakim jest aldehyd mrówkowy, mimo licznych badań nie ma potwierdzonego statusu związku astmogennego. Tym niemniej jego struktura chemiczna wydaje się wskazywać, że może on posiadać takie właściwości (21). W cząsteczce aldehydu mrówkowego występują dwa łatwo wymienialne atomy wodoru zamiast, tak jak w innych aldehydach, atomu wodoru i grupy alkilowej. Na wysoką reaktywność obu wodorów wskazuje fakt tworzenia przez ten aldehyd polimerów fenylo-formaldehydowych, czy mocznikowo-formaldehydowych. Właściwości takich nie posiadają wyższe monoaldehydy, m.in. aldehyd octowy. Badania równoległe przeprowadzone na modelu zwierzęcym z aldehydem mrówkowym i aldehydem glutarowym wykazały, że jedynie aldehyd glutarowy indukował zmiany w reaktywności układu odpornościowego, które mogły powodować wystąpienie reakcji nadwrażliwości alergicznej w drogach oddechowych (22).

Inną, dobrze znaną już od wielu lat, grupą niskocząsteczkowych astmogenów zawodowych, zawierających w strukturze cząsteczki ugrupowanie tlenowe, są kwasy żywiczne. Wymienić tu można kwas abitynowy z kalafonii sosnowej i kwas plikatowy z olejku cedrowego. Są to wysoce złożone, kompleksowe cząsteczki, zawierające w swojej strukturze chemicznej pierścienie aromatyczne i alifatyczne (czasem również z wiązaniami nienasyconymi). Do tych pierścieni dołączone są liczne podstawniki zawierające ugrupowania fenolowe, alkoholowe i inne. Charakter kwasowy tym cząsteczkom nadają grupy karboksylowe (23,24).

Jeszcze inną grupę niskocząsteczkowych związków astmogennych tworzą epoksydy. W ich strukturze występuje silnie naprężony pierścień trójcłonowy, w którym obok tlenu obecne są dwa atomy węgla. Te ostatnie mają właściwości elektrofilne, umożliwiające im reagowanie z centrami nukleofilnymi białek, tworzonymi przez takie aminokwasy,

jak lizyna, histydyna, cysteina. Najprostszy z tej grupy związków tlenek etylenu jest astmogenem (25). Przedstawiono również dane, że triglicylo izocyjanuran zawierający trzy grupy epoksydowe ma właściwości astmogenne (26). Należy zauważyć, że inne związki organiczne zawierające tylko jedno ugrupowanie tlenowe eterowe, ketonowe, alkoholowe czy karboksylowe, mają bardzo niski albo żaden potencjał astmogeny, jakkolwiek w wysokich stężeniach mogą ujawniać silne działanie drażniące na układ oddechowy i powodować RADS.

PRODUKCJA SWOISTYCH IGE, AKTYWACJA KOMÓREK TUCZNYCH ORAZ POWSTANIE ZAPALENIA W BŁONIE ŚLIZOWEJ OSKRZELI W WYNIKU EKSPOZYCJI NA CZYNNIKI O MAŁEJ MASIE CZĄSTECZKOWEJ

Pierwszym etapem w ciągu zdarzeń prowadzących do wystąpienia zawodowej astmy oskrzelowej jest reakcja związku chemicznego o niskim ciężarze cząsteczkowym (haptenu) z makrocząsteczką, najczęściej białkiem. Reakcja astmogenu z białkiem powoduje powstanie zmodyfikowanego białka, w którym pojawiają się nowe epitopy antygenowe. Zmodyfikowane białko jest następnie przetwarzane w komórkach prezentujących antygen (APC). W płucach są to najczęściej komórki dendrytyczne (27). Powstałe peptydy, w tym i te zawierające przyłączony astmogen, są prezentowane na powierzchni APC w połączeniach z cząsteczkami głównego kompleksu zgodności tkankowej (MHC) klasy II. Peptydy z dołączonym astmogenem uczestniczą w selekcji limfocytów Th0, noszących specyficzny receptor o właściwej geometrii molekularnej, odpowiadającej połączeniu peptyd-astmogen. W aktywacji Th0 i ich przekształceniu w aktywną postać Th2 biorą jeszcze udział cząsteczki kostymulujące oraz cytokiny produkowane przez komórki dendrytyczne (28).

Zaktywowane swoiste limfocyty Th2 stają się komórkami zdolnymi do proliferacji. Powstały w wyniku proliferacji macierzystego limfocytu Th2 klon komórek potomnych, których receptor TCR wiąże się swoiście z prezentowanym przez MHC klasy II niskocząsteczkowym astmogenem, bierze udział w regulacji odpowiedzi immunologicznej zachodzącej z udziałem limfocytów B. Aktywacji z udziałem Th2 może ulec tylko ten limfocyt B, którego receptor BCR (immunoglobulina powierzchniowa) specyficznie wiąże ugrupowanie antygenowe, tworzone z udziałem niskocząsteczkowego astmogenu, tego samego, który przyczynił się do aktywacji Th0 z udziałem komórek dendrytycznych i powstania limfocytu Th2. O swoistości aktywacji decyduje interakcja między antygenem (astmogenem niskocząsteczkowym), prezentowanym w kompleksie z MHC klasy II na powierzchni limfocytu B a TCR limfocytu Th2 (28).

Podstawowym skutkiem aktywacji limfocytu B, wynikającej z pojawienia się w drogach oddechowych niskocząsteczkowego związku astmogennego oraz powstania efektorowych komórek dendrytycznych i limfocytów Th2, jest nabycie przez tę komórkę zdolności do syntezy swoistych przeciwciał



IgE. Tę zdolność nabywa limfocyt B z udziałem wielu czynników rozpuszczalnych oraz w wyniku bezpośredniego kontaktu z różnymi komórkami układu odpornościowego. Limfocyt B IgE⁺ (ukierunkowany na astmogen), który nabył zdolność do syntezy IgE, ulega następnie proliferacji i przekształceniu w komórki plazmatyczne (29). Syntetyzowane i wydzielane przez plazmocytoidy swoiste IgE zostają w znaczącej swej części związane przez komórki tuczne (30).

Komórki tuczne odgrywają kluczową rolę w reakcji nadwrażliwości alergicznej w drogach oddechowych wywołanej przez niskocząsteczkowe astmogeny. Aktywacja komórek tucznych występuje wówczas kiedy taki astmogen wiąże się ze swoistymi dla siebie przeciwciałami IgE, które są połączone z błoną komórkową za pośrednictwem receptorów FcεRI. W reakcji z astmogenami, mającymi co najmniej dwa aktywne ugrupowania chemiczne, występuje „mostkowanie” między dwoma przeciwciałami IgE, z których każde jest związane z receptorem FcεRI. To powoduje agregację receptorów FcεRI w błonie i przyczynia się do indukcji wielu przemian biochemicznych, które w ostatecznym wyniku prowadzą do wystąpienia zjawiska degranulacji oraz wytwarzania i uwolnienia z komórek tucznych mediatorów procesu zapalnego. Uwolnione mediatory z komórek tucznych w płucach powodują wystąpienie zwężenia oskrzeli, rozszerzenie naczyń i wzrost ich przepuszczalności a także napływ komórek, takich jak eozynofile, bazofile, neutrofile oraz limfocyty (30,31,32).

Skutkiem aktywacji komórek tucznych może być reakcja wczesna (wczesna faza reakcji astmatycznej), osiągająca w drzewie oskrzelowym szczyt w 10–20 minucie po kontakcie z niskocząsteczkowym astmogenem i ustępująca po upływie 1–2 godzin. Przyczyną wystąpienia tej reakcji są uwalniane z komórek tucznych mediatory, przede wszystkim histamina, a także wiele innych m.in. tryptaza i prostaglandyna PGD₂. Pojawić się może również reakcja późna (późna faza reakcji astmatycznej), która w drzewie oskrzelowym osiąga największe nasilenie w 6–8 godzin po kontakcie z astmogenem i ustępuje po 12–24 godzinach. Reakcja późna szczególnie często spotykana jest w astmie wywołanej przez czynniki o małej masie cząsteczkowej i praktycznie tylko w takim rodzaju astmy spotyka się zjawisko manifestowanej klinicznie izolowanej reakcji późnej. Patogeneza reakcji późnej nie jest jeszcze w pełni poznana. Za wystąpienie tej reakcji odpowiedzialne są głównie leukotrieny (LTC₄) oraz cytokiny prozapalne (np. TNF-α, IL-1β) wydzielane przez komórki tuczne w przebiegu wczesnej fazy reakcji. Powodują one przemieszczanie się bazofilów, neutrofilów, eozynofilów i limfocytów z krwi obwodowej do błony śluzowej oskrzeli i są odpowiedzialne za ich aktywację i powstawanie stanu zapalnego. W przypadku długotrwałego lub wielokrotnego narażenia na niskocząsteczkowy astmogen może dojść do utrwalenia zmian patologicznych. Utrzymujące się stale uwalnianie mediatorów zapalenia przez granulocyty i limfocyty napływające do błony śluzowej oskrzeli, prowadzą do „samonapędzania” się procesu zapalnego (33,34).

REMODELING OSKRZELI A METALOPROTEINAZY

Podtrzymywany proces zapalny, także w przypadku przerwania kontaktu z pierwotnym czynnikiem sprawczym, jakim był astmogen niskocząsteczkowy, doprowadza do powstania utrwalonych zmian strukturalnych w ścianie dolnych dróg oddechowych. Te zmiany są nie tylko skutkiem utrzymującego się procesu zapalnego, ale również uruchomienia procesów naprawczych w tkance płucnej. Uszkodzone komórkowe elementy strukturalne tkanki płucnej mogą być usunięte i zastąpione przez nowe komórki tego samego typu, albo powstałe ubytki zostają uzupełnione tkanką łączną. Konsekwencją uruchomienia procesów naprawczych może być odtworzenie tkanki płucnej o prawidłowej strukturze i funkcji lub, co występuje częściej, dochodzi do jej zwłóknienia i upośledzenia funkcji dolnych dróg oddechowych. Te charakterystyczne dla przewlekłego zapalenia procesy naprawcze występujące w przebiegu astmy oskrzelowej i związane z powstawaniem utrwalonych zmian strukturalnych i czynnościowych błony śluzowej określa się mianem remodelingu. Istotną cechą remodelingu są zmiany w mięśniach gładkich ściany oskrzeli o charakterze hipertrofii i hiperplazji. Obserwuje się również przerost gruczołów śluzowych i związane z tym zwiększone wydzielanie śluzu. Przebudowa struktury oskrzeli powoduje postępujące zmniejszenie się światła oraz stopniowe pogarszanie się wskaźników wentylacji płuc i utratę zdolności do rozkurczu (35,36).

W procesie remodelingu biorą udział komórki nabłonkowe, makrofagi, eozynofile, fibroblasty, limfocyty T, komórki tuczne, neutrofile, komórki mięśni gładkich. Przy udziale tych wszystkich komórek powstają trwałe zmiany anatomiczne w substancji pozakomórkowej (macierzy) oskrzeli, obejmując zarówno błonę podstawną jak i przestrzeń śródmiąższową. W błonie podstawnej odkładane są złożone immunoglobuliny i/lub kolagenu oraz fibronektyny, wytwarzane głównie przez miofibroblasty. W przestrzeni śródmiąższowej dochodzi do zaburzeń w morfologii włókien elastycznych, zwiększenia zawartości kwasu hialuronowego, zmian w strukturze kolagenu oraz powstania depozytów fibronektyny, laminy i tenascyny w błonie podśluzowej (37,38,39). W tym procesie uczestniczą proteinazy i ich inhibitory produkowane przez makrofagi, eozynofile, neutrofile oraz komórki nabłonka (40).

W licznej grupie proteinaz związanych z procesem remodelingu w przebiegu astmy oskrzelowej szczególną rolę spełniają metaloproteinazy (41). Enzymy te należą do rodziny cynko- i wapniozależnych endopeptydaz. Są syntetyzowane i wydzielane przez komórki tkanki łącznej oraz komórki układu hematopoetycznego. Aktywność metaloproteinaz jest regulowana zarówno na poziomie transkrypcji genów kodujących te enzymy jak również na poziomie posttranslacyjnym. W tym drugim przypadku odbywa się to po wydzieleniu proenzymów i ich przetworzeniu w aktywne enzymatycznie metaloproteinazy. Metaloproteinaza-9 jest uwalniana z komórek jako proenzym o ciężarze cząsteczkowym 92 kDa, który z udziałem egzogennych proteinaz zostaje prze-



kształcony w formę aktywną, o niższym ciężarze cząsteczkowym (84 kDa). Aktywacja proenzymu może się odbywać również na drodze autolizy stymulowanej przez oksydanty, organiczne związki rtęci, związki tiolowe i detergenty (42). Niskocząsteczkowe astmogeny, np. diizocyjaniiny, które reagują z komórkowymi grupami -SH (obecnymi w białkach i glutationie) mogą również przyczynić się do aktywacji proenzymatycznych form metaloproteinaz (13).

Ekspresja genów kodujących metaloproteinazy jest regulowana przez takie cytokiny jak IFN- β i IFN- γ oraz TNF- α . Interferony β i γ powodują m.in. zahamowanie syntezy mRNA dla metaloproteinazy-9. Odbywa się to przez hamowanie oddziaływania czynnika transkrypcyjnego STAT-1 z sekwencją promotorową genu kodującego metaloproteinazę-9. TNF- α aktywuje syntezę metaloproteinazy-9, ale mechanizm tej aktywacji nie jest w pełni poznany (43). Aktywność proteolityczna metaloproteinaz jest regulowana przez specyficzne inhibitory produkowane przez te same komórki, które syntetyzują metaloproteinazy (44). Poziom tych inhibitorów jest regulowany z udziałem TNF- α (45).

Metaloproteinazy mają selektywną zdolność do degradacji składników substancji zewnątrzkomórkowej, w tym kolagenu. Przeciwdziałają one nadmiernemu pogrubianiu się błony podstawnej oraz ułatwiają migrację komórek (monocytów/makrofagów) do ogniska zapalnego. W warunkach fizjologicznych ilość metaloproteinaz wydzielanych przez komórki nabłonka, makrofagi czy eozynofile jest równoważona przez odpowiednie ilości inhibitorów tych enzymów. Zwiększona produkcja inhibitorów przyczynia się do zmniejszenia aktywności metaloproteinaz, co powoduje zwiększenie zawartości kolagenu w substancji zewnątrzkomórkowej. Udział metaloproteinaz w zjawisku remodelingu łączy się nie tylko z rozkładem białkowych składników substancji pozakomórkowej, ale również z ich udziałem w degradacji wielu czynników wzrostowych, cytokin oraz cząsteczek adhezyjnych (42). Niektóre metaloproteinazy, które są zasocjowane z powierzchnią błony komórkowej odgrywają rolę regulatorów czynności migracyjnych komórek, zwłaszcza tych napływających do ogniska zapalnego (46).

Metaloproteinaza-9 jest najczęściej identyfikowaną metaloproteinazą w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych, a także w materiale pochodzącym z biopsji oskrzeli u chorych z astmą (42). Opisano występowanie zwiększonej aktywności metaloproteinazy-9 w osoczu krwi chorych z ostrym przebiegiem astmy oskrzelowej. Natomiast aktywność metaloproteinazy-2 pozostawała niezmienną (47). U chorych na astmę wykazano występowanie zaburzeń ilościowych w stosunku metaloproteinaza-9/specyficzny tkankowy inhibitor metaloproteinaz-1 (TIMP-1) (48). Nadmiar inhibitora powoduje, że mimo zwiększenia się ilości metaloproteinazy-9 lub prawidłowej zawartości tego enzymu dochodzi do zwolnienia procesu degradacji kolagenu, proteoglikanów i elastyny.

Na istotny udział metaloproteinaz w powstawaniu utrwalonych zmian strukturalnych i czynnościowych błony

śluzowej oskrzeli w przebiegu astmy wskazują badania polimorfizmu genu *ADAM33*, należącego do rodziny genowej ADAM. Geny te kodują metaloproteinazy, które są zakotwiczone w błonie komórkowej i spełniają różne funkcje, w tym również funkcję usuwania białek obecnych na powierzchni błony, takich jak cytokiny i receptory cytokin (49). Ekspresja genu *ADAM33* występuje w fibroblastach płucnych oraz komórkach mięśni gładkich oskrzeli. Nie występuje w komórkach nabłonkowych oskrzeli (50). Badania polimorfizmu genu *ADAM33* zostały przeprowadzone na 460 rodzinach należących do populacji kaukaskiej (50). Co najmniej dwóch członków każdej rodziny miało rozpoznaną astmę i było leczonych z powodu tej choroby. Jednopunktowe mutacje, obecne zarówno w sekwencjach kodujących jak i niekodujących, występowały 1000 razy częściej u spokrewnionych chorych niż by to wynikało z przypadkowego występowania tych mutacji.

Na powierzchni komórek nabłonkowych, w miejscach lokalnego uszkodzenia nabłonka oskrzeli, stwierdza się zwiększoną ekspresję receptorów dla czynników wzrostu. Sprzyja to przyspieszeniu procesów naprawy uszkodzonego nabłonka. W procesie naprawy uszkodzonego nabłonka i związane z nim zjawiska remodelingu w oskrzelach szczególną rolę odgrywa transformujący czynnik wzrostowy-beta (TGF- β) (33,37). W komórkach nabłonka oskrzeli pochodzących od osób z astmą zwiększona jest synteza mRNA i białka TGF- β (51). TGF- β pobudza syntezę białek macierzy zewnątrzkomórkowej, takich jak kolagen typu II i IV oraz fibronektyna. Z drugiej strony TGF- β stymuluje syntezę metaloproteinazy-2 oraz metaloproteinazy-9, a hamuje ekspresję innych metaloproteinaz (52). Końcowy efekt działania TGF- β jest konsekwencją ustalenia się lub zachwiania równowagi między syntezą białek macierzy pozakomórkowej a degradacją tych białek, pośredniczoną przez metaloproteinazy (42).

APOPTOZA I MARTWICA KOMÓREK A PRZEBIEG ZAPALENIA W OSKRZELACH

Wywołany przez niskocząsteczkowe astmogeny proces zapalny w oskrzelach może z biegiem czasu ulec pełnemu wygaszeniu. Istotny udział w wygaszaniu procesu zapalnego ma apoptoza, czyli programowana śmierć komórek po spełnieniu przez nie określonych funkcji. Zwolnienie lub zahamowanie apoptozy komórek uczestniczących w procesie zapalenia, towarzyszącego astmie oskrzelowej, przyczynia się do podtrzymania tego procesu i rozwinięcia się tzw. minimalnego przetrwałego zapalenia (ang. minimal persistent inflammation). W powstawaniu tego stanu uczestniczą głównie mediatory wydzielane przez uszkodzone komórki nabłonka dróg oddechowych oraz przez ginące w mechanizmie martwicy makrofagi i eozynofile (27,51). Wówczas gdy makrofagi fagocytują granulocyty ginące w mechanizmie apoptozy produkcja prozapalnych cytokin (TNF- α , IL-1 β) przez makrofagi ulega zmniejszeniu, a zwiększa się wytworzenie antyzapalnych mediatorów, w tym TGF- β . Komórki ginące w mechanizmie martwicy po sfagocytowaniu przez



makrofagi stymulują w nich syntezę prozapalnych cytokin i hamują syntezę TGF- β (53,54). Stymulujący wpływ komórek martwiczych na syntezę prozapalnych cytokin ulega znaczącemu osłabieniu w obecności inhibitorów proteinaz oraz przeciwciał skierowanych przeciwko elastazie (53). Potwierdza to rolę proteinaz uwalnianych przez komórki martwicze w podtrzymywaniu procesu zapalnego.

Zdaniem niektórych badaczy (55,56) sygnałem uwalnianym przez komórki ginące w mechanizmie martwicy, który stymuluje aktywność makrofagów do fagocytozy i uwalniania przez nie mediatorów zapalenia TNF- α i IL-1 β jest białko HMGB1 (ang. high mobility group box-1). Białko HMGB-1 jest pasywnie uwalniane do środowiska pozakomórkowego przez komórki ginące w mechanizmie martwicy lub komórki uszkodzone przez czynnik toksyczny (56). Białko to może być również wydzielane przez zaktywowane monocyty/makrofagi (57). Komórki ginące w mechanizmie apoptozy (m.in. makrofagi i eozynofile) nie uwalniają białka HMGB-1 (56).

W komórkach ulegających martwicy białko HMGB-1 zostaje uwalniane z chromatyny i przechodzi do środowiska pozakomórkowego, gdy w komórkach apoptycznych białko to pozostaje trwale związane z chromatyną. Wiązanie to jest utrzymywane nawet po częściowej autolizie komórek apoptycznych, kiedy inne białka, np. dehydrogenaza mleczanowa „uciekają” do środowiska pozakomórkowego (56,58). Komórki pozbawione genu kodującego białko HMGB-1 (genotyp *Hmgb-1*^{-/-}) ginąc w mechanizmie martwicy nie powodują aktywacji monocytów i nie stymulują produkcji TNF- α (59).

Białko HMGB-1 jest zarówno czynnikiem jądrowym jak i białkiem wydzielniczym. W jądrze funkcjonuje jako czynnik chromatyny jądrowej, zabezpieczający utrzymanie odpowiedniej struktury przestrzennej cząsteczki DNA i jej upakowania w chromatynie oraz wpływa na proces transkrypcji genów. HMGB-1 oddziałuje z fragmentem sekwencji promotorowej genu, znajdującym się w małym rowku podwójnej helisy formy B DNA. Ten fragment DNA bogaty w sekwencje AT jest umiejscowiony w pobliżu miejsca startu transkrypcji i bierze udział w wiązaniu polimerazy RNA II. Białko HMGB-1 ułatwia tworzenie kompleksu preinicjacyjnego, tworzonego z udziałem białka wiążącego TATA (ang. TATA box binding protein – TBP) (60). Związanie HMGB-1 z DNA powoduje jego wypętlenie. Pozwala to białkowym aktywatorom związanym z odległymi sekwencjami wzmacniającymi (ang. enhancers) oddziaływać z kompleksem inicjującym transkrypcję genu (61).

Wiązanie białka HMGB-1 z DNA zależy od statusu acetylacji białek chromatyny jądrowej a przypuszczalnie również samego HMGB-1 (62). W komórkach apoptycznych białko HMGB-1 nie zmienia swojego statusu acetylacji i pozostaje silnie związane z chromatyną jądrową. Spowodowane to jest obniżeniem poziomu acetylacji histonu H4 w chromatynie jądrowej. Co różni apoptyczną chromatynę jądrową od tej występującej w komórkach ulegających martwicy, w których

poziom acetylacji histonu H4 utrzymuje się na normalnym poziomie (56). W komórkach ulegających martwicy lub uszkodzonych przez toksyny chemiczne białko HMGB-1 oddysocjowuje z kompleksu chromatynowego (o normalnym poziomie acetylacji) i jest wydzielane do środowiska pozakomórkowego. HMGB-1 wydzielony do przestrzeni pozakomórkowej wiąże się z wysokim powinowactwem do specyficznych receptorów powierzchniowych, obecnych w komórkach występujących w ognisku zapalnym, np. monocytów oraz makrofagów (55). Dotychczas nie ustalono, jakie receptory na powierzchni monocytów/makrofagów są odpowiedzialne za wiązanie białka HMGB-1 i przekazywanie sygnału do wnętrza komórki. Przypuszczalnie mogą to być receptory należące do klasy receptorów AGE (ang. advanced glycosylation end products receptor) (63). Związanie HMGB-1 pochodzącego, np. z komórek martwiczych, z receptorami AGE monocytów i makrofagów może być odpowiedzialne za obserwowaną stymulację produkcji prozapalnych cytokin (55).

Białko HMGB-1 uwalniane z martwiczych komórek płucnych jest sygnałem pobudzającym dla nieuszkodzonych komórek już obecnych w tkance płucnej, np. komórek nabłonkowych, jak również i tych napływających z krwi, np. monocytów. Sygnał ten wpływa stymulująco na produkcję TNF- α i IL-1 β oraz innych cytokin w tym IL-1 β , IL-1RA, IL-6, IL-8, MIP-1 α (ang. macrophage inflammatory protein-1 alpha), MIP-1 β . W odróżnieniu od lipopolisacharydu, który indukuje uwalnianie cytokin stosunkowo szybko, HMGB-1 działa z pewnym opóźnieniem. Dotchawicze podanie zwierzętom doświadczalnym białka HMGB-1 powoduje powstanie ostrego stanu zapalnego w płucach. Towarzyszy temu napływ neutrofilów do płuc, obrzęk płuc oraz zwiększona produkcja TNF- α , IL-1 β oraz MIP-2 (55,59).

Wywołanie endotoksynemii u zwierząt doświadczalnych przez dotchawicze podanie endotoksyny (lipopolisacharydu) powoduje zwiększenie stężenia HMGB-1 w krwi krążącej. Towarzyszy temu wzrost stężenia prozapalnych cytokin, TNF- α i IL-1 β . Podobnie u chorych z endotoksynemią stwierdza się zwiększone stężenie HMGB-1 oraz TNF- α i IL-1 β we krwi (57). W badaniach *in vitro*, prowadzonych na hodowli monocytów, stężenia HMGB-1, wywołujące aktywację tych komórek i uwalnianie prozapalnych cytokin, były podobne do tych, jakie oznaczono we krwi zwierząt z endotoksynemią oraz u septycznych chorych (57,59). Podanie przeciwciał anti-HMGB-1 powoduje znaczące zmniejszenie rozmiaru uszkodzeń tkanki płucnej w przebiegu endotoksynemii doświadczalnej. Obserwowano znaczne ograniczenie napływu neutrofilów do płuc, jak również zmniejszony obrzęk płuc. Przeciwciała anti-HMGB-1 nie miały wpływu na poziom wcześniej uwolnionych cytokin TNF- α i IL-1 β (55).

Tak więc białko HMGB-1 uwalniane z komórek tkanki płucnej, ginących w mechanizmie martwicy, może być uznane, poza prozapalnymi cytokinami, za jeden z ważniejszych czynników wyzwalających i podtrzymujących proces zapalny



w tej tkance. Ponieważ utrzymujący się proces zapalny prowadzi do utrwalań zmian anatomicznych w oskrzelach wykrycie obecności białka HMGB-1 np. w popłucznach oskrzelowo-pęcherzykowych lub płwocinie, może być cennym biologicznym wskaźnikiem, czy proces zapalny w płucach ma tendencję ustępującą (białko HMGB-1 jest nieobecne), czy też jest on podtrzymywany (białko HMGB-1 jest obecne). Badanie na obecność białka HMGB-1 w popłucznach oskrzelowo-pęcherzykowych i płwocinie może stanowić ważne uzupełnienie zestawu postępowań diagnostycznych klinicznych, morfologicznych i biochemicznych, stosowanych dla oceny zjawiska remodelingu oskrzeli w przebiegu astmy oskrzelowej.

PIŚMIENNICTWO

1. Quirce S., Sastre J.: Occupational asthma. *Allergy* 1998; 53: 633–641.
2. Lemiere C., Malo J.L., Boutet M.: Reactive airways dysfunction syndrome due to chlorine: Sequential biopsies and functional assessment. *Eur. Respir. J.* 1997; 10: 241–244.
3. Agius R.M.: Why are some low-molecular weight agents asthmagenic? *Occup. Med.* 2000; 15: 369–383.
4. Griem P., Gleichmann E., Shaw C.F.: Chemically induced allergy and autoimmunity: What do T cells react against? W: Lawrence D.A. [red.]. *Comprehensive Toxicology. Tom 5. Toxicology of the Immune System.* Elsevier Science Inc., New York 1997, ss. 323–338.
5. Regal J.F.: Hypersensitivity reactions in the lung. W: Lawrence D.A. [red.]. *Comprehensive Toxicology. Tom 5. Toxicology of the Immune System.* Elsevier Science Inc., New York 1997, ss. 339–351.
6. Kimber I., Dearman R.J.: Immunobiology of chemical respiratory sensitization. W: Kimber I., Dearman R.J. [red.]. *Toxicology of Chemical Respiratory Hypersensitivity.* Taylor & Francis, London 1997, ss. 73–106.
7. Pepys J., Pickering C.A.C., Hughes E.G.: Asthma due to inhaled chemical agents. Complex salts of platinum. *Clin. Allergy* 1972; 2: 391–396.
8. Linnet P.J., Hughes E.G.: 20 years of medical surveillance on exposure to allergenic and non-allergenic platinum compounds. *Occup. Environ. Med.* 1999; 56: 191–196.
9. Basketter D., Doms-Goossens A., Karlberg A.T., Lepoittevin J.P.: The chemistry of contact allergy: why is a molecule allergenic? *Contact Dermatitis* 1995; 32: 65–73.
10. Estlander T., Kanerva L., Tupasella M.: Immediate and delayed allergy to nickel with contact urticaria, rhinitis, asthma, and contact dermatitis. *Clin. Exp. Allergy* 1993; 23: 306–310.
11. Meredith S.K., Bugler J., Clark R.L.: Isocyanate exposure and occupational asthma: a case-referent study. *Occup. Environ. Med.* 2000; 57: 830–836.
12. Karol M.H., Ioset H.H., Riley E.J., Alarie Y.C.: Hapten-specific respiratory hypersensitivity in the guinea pig. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 1978; 39: 546–556.
13. Wisniewski A.V., Redlich C.A.: Recent developments in diisocyanate asthma. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2001; 1: 169–176.
14. Jones M., Graham C., Taylor A.N.: Immunologic cross-reactivity between respiratory chemical sensitizers: Reactive dyes and cyanuric chloride. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 1998; 102: 835–840.
15. Topping M.D., Forster R.W., Ide C.W.: Respiratory allergy and specific immunoglobulin E and immunoglobulin G antibodies to reactive dyes used in the wool industry. *J. Occup. Med.* 1989; 31: 857–862.
16. Agius R.M., Elton R.A., Sawyer I., Taylor P.: Occupational asthma and the chemical properties of low molecular weight organic substances. *Occup. Med.* 1994; 44: 34–36.
17. Venables K.M.: Low molecular weight chemicals, hypersensitivity, direct toxicity: The acid anhydrides. *Br. J. Ind. Med.* 1989; 46: 222–232.
18. Welinder X., Zhang H., Gustavsson C.: Structure-activity relationships of organic acid anhydrides as antigens in an animal model. *Toxicology* 1995; 103: 127–136.
19. Beauchamp R.O. Jr, Clair M.B.G., Fennell T.R., Clarke D.O., Morgan K.T., Kari F.W.: A critical review of the toxicology of glutaraldehyde. *Crit. Rev. Toxicol.* 1992; 22: 143–174.
20. Curran A.G., Burge P.S., Wiley E.: Clinical and immunologic evaluation of workers exposed to glutaraldehyde. *Allergy* 1996; 51: 826–832.
21. Karol M.H., Graham C., Grealy R.: Structure-activity relationships and computer-assisted analysis of respiratory sensitisation potential. *Toxicol. Lett.* 1996; 86: 187–191.
22. Dearman R.J., Basketter D.A., Evans P., Kimber I.: Comparison of cytokine secretion profiles provoked in mice by glutaraldehyde and formaldehyde. *Clin. Exp. Allergy* 1999; 29: 124–132.
23. Burge P.S., Wieland A., Robertson A.S., Weir D.: Occupational asthma due to unheated colophony. *Br. J. Ind. Med.* 1986; 43: 559–560.
24. Cartier A., Chan H., Malo J.L.: Occupational asthma caused by eastern white cedar (*Thuja occidentalis*) with demonstration that plicatic acid is present and is the causative agent. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1986; 77: 639–645.
25. Deschamps D., Rosenberg N., Soler P.: Persistent asthma after accidental exposure to ethylene oxide. *Br. J. Ind. Med.* 1992; 49: 523–525.
26. Pirila P., Estlander T., Keskinen H.: Occupational asthma caused by triglycidyl isocyanurate. *Clin. Exp. Allergy* 1997; 27: 510–514.
27. Smith W.B., Holt P.G.: Professional antigen-presenting cells. W: Busse W., Holgate S. [red.]. *Asthma and Rhinitis.* Blackwell Science Ltd., Oxford 2000, ss. 650–670.
28. Banchereau J., Briere F., Caux Ch., Davoust J., Lebecque S., Liu Y-J. i wsp.: Immunobiology of dendritic cells. *Annu. Rev. Immunol.* 2000; 18: 767–811.
29. Snow E.C.: The regulation of B cell activation through cognate interactions with T helper cells and the actions of T cell-derived soluble mediators. W: Lawrence D.A. [red.]. *Comprehensive Toxicology. Tom 5. Toxicology of the Immune System.* Elsevier Science Inc., New York 1997, ss. 279–291.
30. Karol M.H., Graham C.: Antibody-mediated hypersensitivity. W: Lawrence D.A. [red.]. *Comprehensive Toxicology. Tom 5. Toxicology of the Immune System.* Elsevier Science Inc., New York 1997, ss. 305–322.
31. Bonefoy J.Y., Pochon J.P., Aubry J.P.: A new pair of surface molecules involved in IgE regulation. *Immunol. Today* 1995; 14: 1–2.
32. Sutton B.J., Gould H.J.: The human IgE network. *Nature* 1993; 366: 421–428.
33. Redington A.L., Sime P.J., Howarth P.H., Holgate S.T.: Fibroblast and the extracellular matrix in asthma. W: Holgate S.T., Busse W.W. [red.]. *Inflammatory Mechanisms in Asthma.* Marcel Dekker, New York 1998, ss. 443–467.
34. Roche W.R., Howarth P.H., Wilson J.W., Bousquet J., Rak S., Pauvels R.A.: Airway Remodeling. Marcel Dekker, New York 2001, ss. 137–146.



35. Bousquet J., Jeffery P.K., Busse W.B., Johnson M., Vignola A.M.: Asthma: from bronchoconstriction to airway remodeling. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2000; 161: 1720–1745.
36. Wilson J.W., Bamford T.L.: Assessing the evidence for remodeling of the airway in asthma. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 2001; 14: 229–247.
37. Chung K.F.: Cytokines in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur. Respir. J.* 2001; 34 (Supl.): 50–59.
38. Holgate S.T.: Airway remodeling. *Eur. Respir. J.* 1998; 8: 1007–1015.
39. Vignola A.M., Kips J., Bousquet J.: Tissue remodeling as a feature of persistent asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2000; 105: 1041–1053.
40. Choi K.H., Lee H.B., Jeong M.Y., Rhee Y.K., Chung M.J., Kwak Y.G. i wsp.: The role of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in cryptogenic organizing pneumonia. *Chest* 2002; 121: 1478–1485.
41. Kumagai K., Ohno I., Imai K., Nawata J., Hayashi K., Okada S. i wsp.: The involvement of matrix metalloproteinase in basement membrane injury in a murine model of acute allergic airway inflammation. *Clin. Exp. Allergy* 2002; 32: 1527–1534.
42. Shute J.: Matrix metalloproteinase-9: marker or mediator of tissue damage in asthma? *Clin. Exp. Allergy* 2002; 32: 168–171.
43. Ma Z., Qin H., Beneveniste E.N.: Transcriptional suppression of matrix metalloproteinase-9 gene expression by IFN-gamma and IFN-beta: critical role of STAT-1 alpha. *J. Immunol.* 2001; 167: 5150–5159.
44. Baker A.H., Edwards D.R., Murphy G.: Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities. *J. Cell Sci.* 2002; 115: 3719–3727.
45. Beeh K.M., Beier J., Kommann O., Micke P., Buhl R.: Sputum levels of metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1, and their ratio correlate with airway obstruction in lung transplant recipients: relation to tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10. *J. Heart Lung Transplant.* 2001; 20: 1144–1151.
46. Seiki M.: The cell surface: the stage for matrix metalloproteinase regulation of migration. *Curr. Opin. Cell. Biol.* 2002; 14: 624–632.
47. Belleguic C., Corbel M., Germain N., Lena H., Boichot E., Delaval P.H. i wsp.: Increased release of matrix metalloproteinase-9 in the plasma of acute severe asthmatic patients. *Clin. Exp. Allergy* 2002; 32: 217–223.
48. Mautino G., Capony F., Bousquet J., Vignola A.M.: Balance in asthma between matrix metalloproteinases and their inhibitors. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1999; 103: 324–330.
49. Stone A.L., Kroeger M., Sang Q.X.A.: Structure-function analysis of the ADAM family of disintegrin-like and metalloproteinase-containing proteins. *J. Prot. Chem.* 1999; 18: 447–465.
50. Van Eerdewegh P., Little R.D., Dupuis J., Del Mastro R.G., Falls K., Simon J. i wsp.: Association of the ADAM33 gene with asthma and bronchial hyperresponsiveness. *Nature* 2002; 418: 426–430.
51. Pawankar R.: Epithelial cells as immunoregulators in allergic airway diseases. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2002; 2: 1–5.
52. Overall C.M., Wrana J.L., Sodek J.: Transcriptional and posttranscriptional regulation of 72kDa gelatinase type IV collagenase by transforming growth factor- β 1 in human fibroblasts. *J. Biol. Chem.* 1991; 266: 14064–14071.
53. Fadok V.A., Bratton D.L., Guthrie L., Henson P.M.: Different effects of apoptotic versus lysed cells on macrophage production of cytokines: role of proteases. *J. Immunol.* 2001; 166: 6847–6854.
54. McDonald P.P., Fadok V.A., Bratton D.L., Henson P.M.: Transcriptional and translational regulation of inflammatory mediator production by endogenous TGF- β in macrophages that have ingested apoptotic cells. *J. Immunol.* 1999; 163: 6164–6173.
55. Abraham E., Arcaroli J., Carmody A., Wang H., Tracey K.J.: Cutting edge: HMG-1 as a mediator of acute lung inflammation. *J. Immunol.* 2000; 165: 2950–2954.
56. Scaffidi P., Wistell T., Bianchi M.E.: Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature* 2002; 418: 191–195.
57. Wang H., Bloom O., Zhang M., Vishnubhakat J.M., Ombrellino M., Che J. i wsp.: HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science* 1999; 285: 248–251.
58. Phair R.D., Mistel T.: High mobility of proteins in the mammalian cell nucleus. *Nature* 2000; 404: 604–609.
59. Andersson U., Wang H., Palmblad K., Aveberger A.C., Boom O., Erlandsson-Harris H. i wsp.: High mobility group 1 protein (HMG-1) stimulates proinflammatory cytokine synthesis in human monocytes. *J. Exp. Med.* 2000; 192: 565–570.
60. Das D., Scovell V.V.M.: The binding interaction of HMG-1 with the TATA-binding protein/TATA complex. *J. Biol. Chem.* 2001; 276: 32597–32605.
61. Mitsouras K., Wong B., Arayata C., Johnson R.C., Carey M.: The DNA architectural protein HMGB1 displays two distinct modes of action that promote enhanceosome assembly. *Mol. Cell. Biol.* 2002; 22: 4390–4401.
62. Ugrinova I., Pasheva E.A., Armengaud J., Pashev I.G.: In vivo acetylation of HMG1 protein enhances its binding affinity to distorted DNA structures. *Biochemistry* 2001; 40: 14655–14660.
63. Thornalley P.J.: Cell activation by glycated proteins. AGE receptors, receptor recognition factors and functional classification of AGEs. *Cell. Mol. Biol.* 1998; 44: 1013–1023.

