

Kitinaser

– en möjlig biomarkör för kronisk luftvägsinflammation hos barn med svår astma

SAMMANFATTNING

Ett viktigt område inom astmaforskningen är att hitta biomarkörer som kan möjliggöra en individanpassad behandling. Förhöjda nivåer av det kitinase-liknande proteinet YKL-40 har påvisats i serum och BAL hos vuxna astmapatienter, och har visat sig korrelera med sjukdomens svårighetsgrad. Nivåerna av YKL-40 påverkas också av den enskilda individens genetik.

I en svensk studie blev YKL-40 i serum undersökt hos skolbarn med svår astma, kontrollerad astma och friska kontroller. Eventuella samband mellan YKL-40, bronkväggsförtjockning på HRCT, lungfunktion och andra biomarkörer för inflammation blev också undersökt samt hur genetiska variationer påverkar nivåerna av YKL-40 hos barn med olika kliniska presentationer av sin astma.

Resultaten visade att YKL-40 var förhöjd hos barn med svår astma jämfört med friska barn, och efter justering för genotyp hade barnen med svår astma också högre nivåer jämfört med kontrollerade astmatiker. Dessutom korrelerade nivåerna av YKL-40 med graden av astmakontroll, bronkväggsförtjockning på HRCT och antalet neutrofiler i blod hos barn med svår astma. Fynden visar att YKL-40 kan vara en lätt tillgänglig biomarkör av astmasvårighetsgrad och remodellering hos barn med svår astma.

JON R. KONRADSEN¹, ANNA JAMES² OCH GUNNILA HEDLIN³, *Karolinska Institutet*

Ett viktigt område inom astmaforskningen idag är att försöka hitta och utvärdera biomarkörer som kan förbättra karakteriseringen av patienter med astma för att i slutändan kunna individanpassa behandlingen. Hos patienter med svår astma, det vill säga patienter som har återkommande exacerbationer och/eller kroniska symtom trots intensiv behandling, är behovet särskilt stort för nya biomarkörer och behandlingsmetoder (1).

Kitin är en hård polysackarid som produceras av en rad olika organismer, inklusive insekter, kräddjur, parasiter, svampar och bakterier. Kitin utgör en del av dessa organismers cellväggar och exoskelett och bidrar till deras skydd mot hårda miljöförhållanden (2). Kitin finns inte i människokroppen, men kitinaser, dvs. enzymer som kan bryta ned kitin, samt det kitinase-liknande proteinet YKL-40, finns hos människor.

Den biologiska funktionen av YKL-40 är inte kartlagd i detalj, men proteinet har visat sig vara involverat

i olika biologiska funktioner som är associerade med kronisk inflammation, till exempel reglering av överlevnad, adhesion, migration och proliferation av olika strukturella celltyper, bland andra muskelceller och fibroblaster. YKL-40 har även immunmodulerande effekter så som reglering av cytokinfrisättning från monocytter och T-regulatoriska celler (3).

YKL-40 kan mätas i olika kroppsvätskor och förhöjda nivåer av YKL-40 i blod har påvisats hos patienter med meningit, reumatoid artrit, olika typer av cancer, leverfibros och hos patienter med kronisk luftvägsinflammation (4).

Avseende YKL-40 och astma, har förhöjda nivåer av YKL-40 påvisats i serum och BAL hos vuxna astmapatienter och nivåerna av YKL-40 har också visat sig korrelera med sjukdomens svårighetsgrad (5). En möjlig mekanism för detta är att YKL-40 är en markör för, eller involverad i, utvecklingen av kronisk luftvägsinflammation, fibros och

1 Jon R. Konradsen, barnläkare, Med dr. Institutionen för kvinnors och barns hälsa och Centrum för Allergiforskning, Karolinska Institutet

2 Anna James, PhD, Experimentell Astma och Allergiforskning och Centrum för Allergiforskning, Institutet för Miljömedicin, Karolinska Institutet

3 Gunilla Hedlin, professor, Institutionen för kvinnors och barns hälsa och Centrum för Allergiforskning, Karolinska Institutet

KONTAKTADRESS:

Jon R. Konradsen
Lung och Allergimottagningen
Astrid Lindgrens Barnsjukhus
Karolinska Universitetssjukhuset, Solna
SE-17176 Stockholm
jon.konradsen@karolinska.se



Resultaten från en svensk studie av barn med svår astma visar att höga nivåer av det kitinaseliknande proteinet YKL-40 hos barn med astma är associerad med nedsatt astmakontroll, pågående luftvägsinflammation och remodelling. FOTO: TORE FJELD

remodelling av luftvägarna (6). Eftersom det i nuläget saknas lättillgängliga biomarkörer som kan spegla remodelling och fibros i luftvägarna skulle YKL-40 kunna vara en kliniskt relevant och lättillgänglig biomarkör för dessa sjukdomsprocesser hos patienter med svår astma.

Nivåerna av YKL-40 påverkas också av den enskilda individens genetik. Variationer eller SNPs (SNP= single nucleotid polymorphism) i promotorregionen för YKL-40 genen (*CHI3L1*) påverkar nivåerna av YKL-40 i serum och har dessutom visat sig vara associerade till lungfunktion och förekomsten av astma (7).

Kunskapen om YKL-40 i relation till genetiska variationer och astma hos barn är mycket begränsad. I denna studie ville vi jämföra YKL-40 i serum hos barn med svår astma, kontrollerad astma och friska kontroller (8). Vidare ville vi undersöka eventuella samband mellan YKL-40, bronkväggstjockning på HRCT (ett surrogatmått på remodelling i luftvägarna), lungfunktion, och andra biomarkörer för inflammation. Slutligen ville vi undersöka hur genetiska variationer i *CHI3L1* påverkar nivåerna av YKL-40 hos barn med olika kliniska presentationer av sin astma.

Metoder

I den svenska svår astma studien jämfördes skolbarn med svår astma med åldersmatchade barn med välkontrollerad astma. Syftet med studien var att göra en klinisk karakterisering av dessa två patientgrupper, och studera skillnader mellan barn med svår astma och barn med kontrollerad astma avseende ärftlighet, etiologi, patofysiologi, och klinisk presentation. Kohorten har presenterats i detalj tidigare (9). I denna specifika delstudie inkluderades 73 barn (34 barn med svår astma, 39 barn med kontrollerad astma) från 15 olika barnkliniker, inklusionskriterier redovisas i tabell 1. Dessutom inkluderades 27 friska kontroller. Barnen undersöktes enligt ett protokoll som bland annat innefattade frågeformulär (sjukhistoria, astmakontrolltest), lungfunktionsmätningar (spirometri), utvärdering av bronkial hyperreaktivitet (metakolinprovokation), allergiutredning (IgE), genetisk kartläggning (analys av variation (-131

TABELL 1. Inklusionskriterier för barn med svår astma och kontrollerad astma

SVÅR ASTMA	KONTROLLERAD ASTMA
<p>Astmadiagnosen säkerställd och barnet behöver behandling med en hög dos inhalationssteroider (motsvarande ≥ 800 μg budesonid per dygn) med tillägg av LABA och/eller LTRA.</p> <p>Trots denna intensiva behandling skall barnet ha tecken på bristande astmakontroll: återkommande exacerbationer och/eller kroniska symptom.</p> <p>Barn som hade identifierbara och åtgärdbara förklaringar till sin bristande astmakontroll (t ex obehandlad komorbidity, pågående allergenexponering trots sensibilisering) exkluderades från detta specifika delarbete.</p>	<p>Astmadiagnosen säkerställd och barnet behöver behandling med en låg till måttligt hög dos med inhalationssteroider (motsvarande ≥ 100 – ≤ 400 μg budesonid per dygn).</p> <p>Med denna behandling skall patienten ha god astmakontroll.</p>

TABELL 2. Jämförelse av astmakontroll, lungfunktionsmätningar och biomarkörer för inflammation, mellan barn med svår astma och kontrollerad astma.

VARIABEL	SVÅR ASTMA n=34	KONTROLLERAD ASTMA n=39	P-VÄRDE
Ålder, år	13,3 (3,1)	13,8 (2,9)	0,50
Inhalationssteroider, µg budesonid ekv, median (IQR)	800 (800-800)	320 (200-400)	
Body mass index	20,4 (3,5)	20,0 (3,1)	0,63
Astmakontrolltest	17 (3,2)	23 (1,8)	<0,001
FEV1, %	86 (19)	90 (11)	0,22
FEV1/FVC*100	85 (10)	80 (8)	0,03
FENO, p.p.b., median (IQR)	15 (10-38)	17 (9-26)	0,93
Metakolin, median (IQR)	50 (1,4-92)*	3,4 (0,4-27)	0,01
Total IgE, kU/L, median (IQR)	219 (44-885)	280 (66-700)	0,92
Eosinofiler i blod, 10 ⁹ xL ⁻¹	0,42 (0,4)	0,25 (0,2)	0,04
Neutrofiler i blod, 10 ⁹ xL ⁻¹	3,3 (1,5)	2,7 (0,7)	0,03
YKL-40, ng/ml, median (IQR)	19,2 (14-23)	16,3 (15-18)	0,12
Bronkväggsförtjockning på CT	20,5 (8)	-	

NA: Statistisk jämförelse inte relevant, eftersom de observerade skillnaderna speglar inklusionskriterierna. CT har inte utförts på barnen med kontrollerad astma. Alla värden är rapporterade som medel (SD) om inte annat anges.

C/G) i CHI3L1 genen (rs4950928) och utvärdering av inflammatoriska markörer i blod (YKL-40, neutrofiler och eosinofiler) och utandningsluft (FENO). Dessutom gjordes CT-thorax på barnen med svår astma. Bronkväggsförtjockningen på CT bedömdes med hjälp av en semikvantitativ score (10) som baseras på antagandet att varje ökning av tjockleken på bronkväggen är associerad med en ökning av antalet synliga bronker på CT. Följaktligen blev antal synliga bronker räknade vid tre förutbestämda nivåer i höger lunga och summerades för att ge en kvantitativ bedömning av bronkväggsförtjockningen hos varje enskilt barn.

Resultat

Barnen med svår astma (n = 34) hade, trots höga doser av inhaleda kortikosteroider, sämre astmakontroll (p < 0,001), mera luftvägsobstruktion (p = 0,03), ökad bronkial hyperaktivitet (p = 0,01) och ökat antal eosinofiler (p = 0,04) och neutrofiler (p = 0,03) i blod jämfört med barnen med kontrollerad astma (n = 39), tabell 2. Det fanns inga skillnader mellan dessa två grupper av barn avseende ålder vid inklusion, BMI, FENO och total IgE i blodet.

Serumnivåer YKL-40 hos barn med svår och kontrollerad astma, samt friska kontroller.

Högre nivåer av YKL-40 uppmättes

i serum från barn med svår astma jämfört med friska barn (19,2 (14-23) vs. 13,8 (9-20), p = 0,03). Skillnaderna mellan barn med svår och kontrollerad astma (19,2 (14-23) mot 16,3 (15-18), p = 0,12) och mellan kontrollerade astmatiker och friska kontroller (p = 0,26) var inte statistiskt signifikanta, figur 1.

Korrelationer med övriga astmakarakteristika

Bland alla barn med astma, fanns det korrelationer mellan YKL-40 nivåer

och astmakontroll (r = -0,38, p = 0,001) och antalet neutrofiler i blod (r = 0,51, p = <0,001). Dessutom fanns bland barn med svår astma, signifikanta samband mellan YKL-40 och FENO (r = 0,48, p = 0,004), samt med graden av bronkväggsförtjockning på HRCT (r = 0,45, p = 0,01, figur 2).

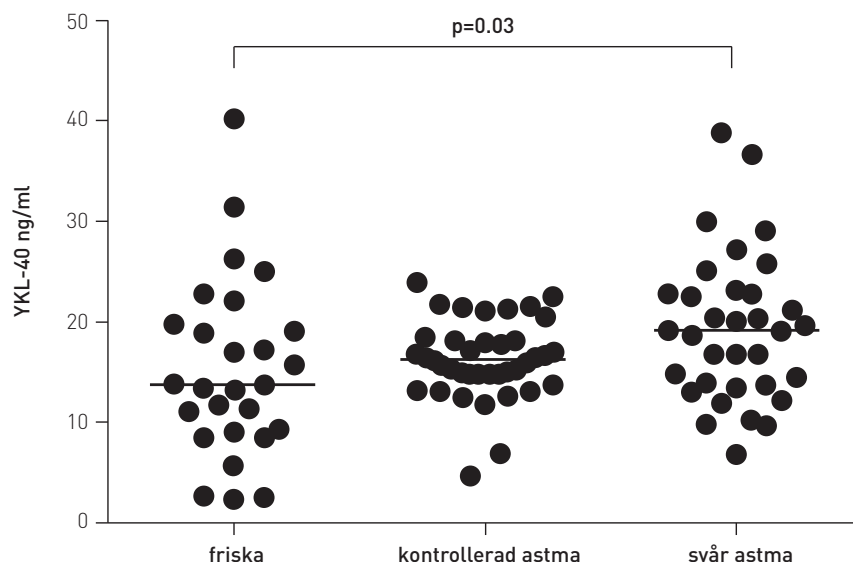
Associationer mellan -131 C/G polymorfism (rs4950928) i CHI3L1, YKL-40 nivåer, svårighetsgrad och övriga astmakarakteristika

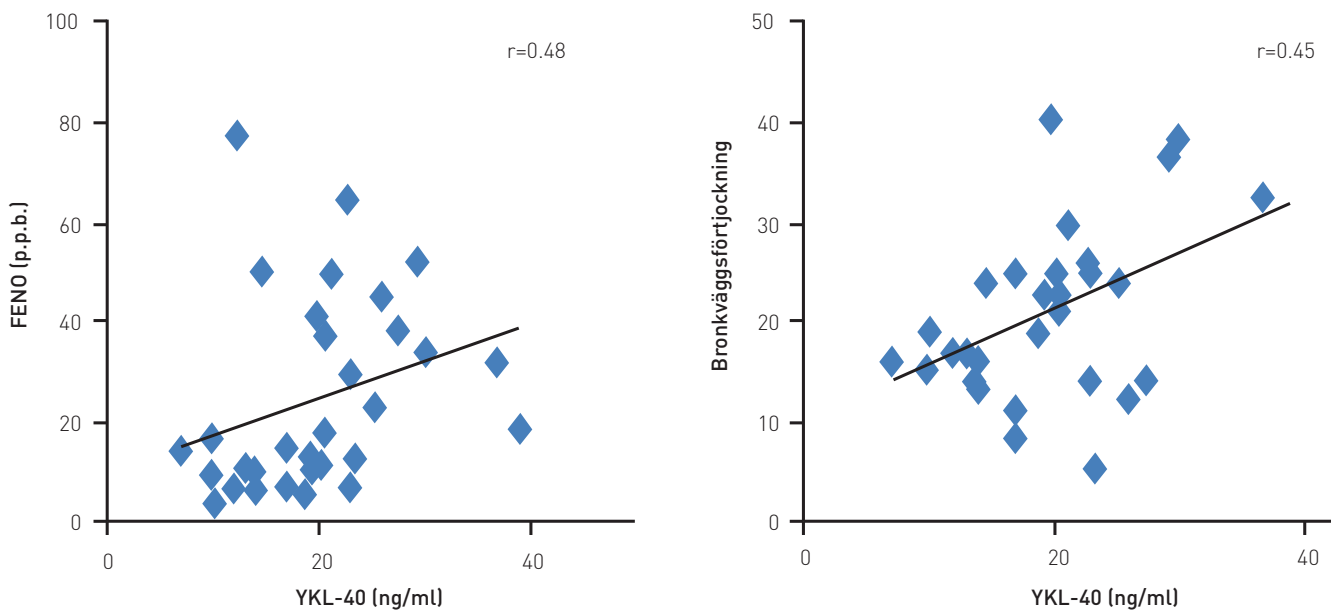
Barn som var homozygota för C-allelen (n = 46) hade högre cirkulerande nivåer av YKL-40 (18,3 (16-23)), jämfört med heterozygota (CG) bärare, n = 24, (13,7 (12-16), p < 0,001), figur 3. Bland CC-bärarna, hade barn med svår astma högre nivåer YKL-40 jämfört med CC-bärare med kontrollerad astma, (22,8 (20-28) jämfört med 16,7 (15-18), p < 0,001), figur 3. Bland CG-bärare fanns det ingen signifikant skillnad i YKL-40 nivåer mellan barn med svår och kontrollerad astma.

Bland alla CC-bärare, fanns det korrelationer mellan YKL-40 nivåer och astmakontroll (r = -0,59, p < 0,001), FEV1 (r = 0,34, p = 0,02), neutrofiler (r = 0,6, p < 0,001) FENO (r = 0,48, p = 0,001) och bronkväggsförtjockning på CT (r = 0,58, p = 0,02). Bland CG-bärare kunde inga av dessa korrelationer påvisas.

FIGUR 1. Jämförelse av serumnivåerna av YKL-40 hos barn med svår astma, kontrollerad ihållande astma och friska kontroller. Resultaten presenteras som enskilda datapunkter med median- värdet indikerat.

(ÅTERGIVEN MED TILLSTÅND FRÅN JACI (8)).





FIGUR 2. Samband mellan YKL-40, NO i utandningsluften (FENO), och bronkväggförtjockning bland barn med svår astma. (ÅTERGIVEN MED TILLSTÅND FRÅN JACI 2013 (8)).

Diskussion

I denna kohort av väl karakteriserade skolbarn med astma, kunde vi påvisa samband mellan YKL-40, kliniska karakteristika och sjukdomens svårighetsgrad. Serumnivåerna av YKL-40 var förhöjda hos barn med svår astma jämfört med friska barn. Dessutom korrelerade nivåerna av YKL-40 med graden av astmakontroll,

bronkväggförtjockning på HRCT och antalet neutrofiler i blod hos barn med svår astma.

Barn med svår astma hade signifikant högre nivåer av YKL-40 jämfört med friska kontroller, medan en mindre icke signifikant skillnad fanns mellan barn med kontrollerad astma och de friska kontrollerna. Dessa resultat, tillsammans med den omvända korrelationen mellan

YKL-40 och astmakontroll, förstärker uppfattningen att ökade nivåer av YKL-40 hos barn är förknippade med svår astma, och bekräftar tidigare fynd från kinesiska, franska och nordamerikanska kohorter av vuxna patienter med astma (5, 11).

Upptäckten av ett samband mellan serum-YKL-40 nivåer och graden av bronkväggförtjockning på CT hos barn med svår astma är av särskilt intresse. Bilden av förtjockade bronkväggar representerar förtjockad basalmembran, hypertrofi och hyperplasi av den glatta muskulaturen i bronkerna, ökat antal och storlek av slemkörtlar, samt nybildade blodkärl (12). Våra upptäckter stärker uppfattningen att YKL-40 är en markör för, eller direkt involverad i remodelling av luftvägarna. Tidigare studier har påvisat samband mellan serum- och BAL- nivåer av YKL-40 och förtjockat basalmembran på biopsier (5). Gavala et al. utförde en allergen provokation hos personer med lindrig astma (13) och rapporterade ökade YKL-40 nivåer i BAL 48 timmar efter provokation. De fann också samband mellan YKL-40 och pro-fibrotiska faktorer, vilket stöder att kitinaser är involverade i remodelling av luftvägarna. YKL-40 binder till kollagen I och kan reglera bildningen av kollagenfibriller (14) och har nyligen visat sig öka proliferationen av humana glatta muskelceller in vitro (6).

FIGUR 3. Effekten av genetisk variation. YKL-40 nivåer i serum är kategoriserade enligt barnets CHI3L1 genotyp (rs4950928) och astmans svårighetsgrad. Resultat från barn med kontrollerad astma (●), och svår astma (■) visas som enskilda datapunkter med medianvärdet indikerat. (ÅTERGIVEN MED TILLSTÅND FRÅN JACI (8)).

