

Marcadores Biológicos da Rinossinusite

Luiz Euribel Prestes-Carneiro¹, André Felipe Freitas Rodrigues¹, Gabriel Cardoso Ramalho Neto²

1 - Departamento de Imunologia e Departamento de Pós-Graduação e Pesquisa, Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, São Paulo

2 - Departamento de Otorrinolaringologia, Hospital Universitário "Domingos Leonardo Cerávolo", Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, São Paulo

Resumo

A rinossinusite está aumentando em todas as regiões do mundo e no Brasil não existem dados precisos sobre sua incidência. Vários fatores são importantes no desenvolvimento da rinossinusite, incluindo microrganismos, resposta imune desencadeando inflamação que pode ser de origem alérgica e não alérgica e causas não imunes. Dessa maneira a determinação de marcadores biológicos *in vitro* pode auxiliar o médico no diagnóstico e prognóstico da doença. Bactérias, vírus e fungos estão entre os principais agentes da rinossinusite, com envolvimento de mediadores produzindo inflamação, infecção ou ambos, o que requer seu isolamento e quantificação assim como o uso de antimicrobianos específicos. Além disso, alguns agentes como *S. aureus* produzem exotoxinas denominadas superantígenos, levando a ativação concomitante de Linfócitos T e B e produção de anticorpos. A alergia tem sido descrita como um fator importante na etiologia das doenças respiratórias, incluindo rinossinusite. A rinite alérgica crônica é um fator que predispõe os indivíduos à rinossinusite aguda por microrganismos. Nessa situação, a determinação dos níveis de IgE total ou de IgE específica por ELISA ou radioimunoensaio é bastante usada para investigar a intensidade da inflamação e podem ser associados com a presença de eosinófilos ou mastócitos no tecido ou pólipos nasal. Essa associação indica inflamação local e pode medir a severidade da doença. A ativação eosinofílica pode ser determinada pela dosagem da ECP no soro ou no lavado nasal por método fluorimétrico. Em complementação pode ser efetuada a contagem de eosinófilos no sangue periférico uma vez que os mesmos apresentam-se elevados na rinossinusite crônica. Dessa maneira, pela rinossinusite apresentar-se como um pro-

Summary

Biologic Markers of Rhinosinusitis

*Rhinosinusitis is increasing in prevalence and incidence more and more around the world, and there is no data about its real dimension in Brazil. Several factors are important in rhinosinusitis development, including microorganisms, immune response triggering inflammation, which could be allergic or non-allergic and non-immune causes. Therefore, the determination of biologic markers in vitro could help the physician in the diagnosis and prognosis of the disease. Virus, bacteria and yeast constitute important etiologic agents of rhinosinusitis, and inflammation mediators might be involved in producing inflammation, infection or both, requiring isolation and quantification as well as specific antimicrobial therapy. In addition, some agents such as *S. aureus* produce exotoxins named superantigens, leading to concomitant activation of T e B lymphocytes and antibody production. Allergy has been reported as an important factor in the etiology of respiratory diseases including rhinosinusitis. Chronic allergic rhinitis is an important factor predisposing the individuals to acute rhinosinusitis by microorganisms. In this situation an ELISA or radioimmunoassay of Total IgE and specific IgE test are used to investigate the level of inflammation and could be associated with the presence of eosinophils and mast cells in nasal tissues or in the polyps. This association is related to local inflammation and may indicate the severity of the disease. The eosinophils activation could be accessed by fluorimetric ECP determination in serum or nasal lavage fluid, considered an important marker for mast cells and eosinophils activation. Besides, a relationship between peripheral blood eosinophils alterations and chronic rhinosinusitis can be established.*

cesso mórbido desencadeado por diferentes fatores, a determinação *in vitro* de marcadores biológicos poderá fornecer informações importantes ao médico auxiliando no diagnóstico diferencial e em terapêuticas estratégicas.

Palavras-chave: Rinossinusite, IgE, eosinófilos, superantígeno

Thus, rhinosinusitis is a morbid process triggered by different agents, so an in vitro measurement of biological markers provides important information for a distinct diagnosis as well as therapeutic strategies.

Keywords: Rhinosinusitis, IgE, eosinophils, superantigen

Introdução

A rinossinusite, uma afecção das vias aéreas, vem aumentando em prevalência e incidência em todo o mundo. Nos EUA, aproximadamente 31 milhões de pessoas são afetadas a cada ano, porém no Brasil sua incidência ainda é desconhecida (1).

Sob o ponto de vista clínico, trata-se de uma resposta inflamatória na membrana mucosa que reveste a cavidade nasal e os seios paranasais, ocasionalmente estendendo-se para o neuroepitélio e osso subjacente. É classificada em aguda, subaguda, crônica, recorrente e complicada. A rinossinusite é aguda quando tem duração de até quatro semanas, subaguda com duração entre quatro e 12 semanas e crônica quando dura mais de 12 semanas. A rinossinusite recorrente caracteriza-se pela ocorrência de mais de quatro episódios por ano que duram de sete a 10 dias e se resolvem completamente a cada interva-

lo entre um episódio e outro. A rinossinusite é chamada complicada quando apresenta complicação local ou sistêmica em qualquer fase (2).

Vários fatores podem causar rinossinusite, incluindo microrganismos (vírus, bactérias e fungos), resposta imune com inflamação (alérgica ou não alérgica), ou ainda causas não imunológicas. A inflamação é caracterizada por uma série de respostas moleculares e celulares destinadas a eliminar o agente causador e promover o reparo dos tecidos destruídos (1).

A rinossinusite causada por microrganismos

Vírus e bactérias como agentes etiológicos da rinossinusite são amplamente conhecidos. Sua causa mais comum é uma infecção viral adquirida em ambientes como residência, escola ou trabalho, com um período limitado de sintomas (descarga pós-nasal), congestão e tosse. Nessa ocasião poderá haver

uma infecção bacteriana secundária dos seios paranasais a qual é tratada através de antibioticoterapia específica.

Tais infecções são caracterizadas pela presença de uma ou mais bactérias em grande quantidade (pelo menos 1000 UFC/mL de secreção nasal), sendo mais comumente isoladas *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* e *Moraxella catarrhalis*. Com menor frequência podemos encontrar *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus beta-hemolítico* (1). Muitos microrganismos, como a bactéria *S. aureus*, vírus e fungos, além de causarem processos infecciosos, liberam exotoxinas capazes de ativar Linfócitos T (LT). Esta ativação de LT se dá pela ligação cruzada da região variável beta ($V\beta$) do receptor do LT com a molécula de classe II do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC-II, do inglês *Main Histocompatibility Complex II*) das células apresentadoras de antígenos

(APC), sem a necessidade de processamento e apresentação. Essas exotoxinas são chamadas de superantígenos porque ativam uma considerável subpopulação de LTs (cerca de 30% do total), comparado ao observado na ativação clássica (cerca de 0,01%) (3). Além disso, os superantígenos podem agir como antígenos clássicos levando à geração concomitante de anticorpos específicos, especialmente do tipo IgE (1).

O estudo microbiológico em pacientes acometidos por rinosinusite é realizado na secreção nasal, tanto nas rinosinusites fúngicas quanto na pesquisa de bactérias potencialmente patogênicas. Após a identificação primária do agente etiológico deve-se realizar um antibiograma para determinar a eficácia dos antimicrobianos.

Dentre os fungos capazes de desencadear a rinosinusite, podemos citar *Aspergillus sp.* e *Candida albicans*. Seja qual for o agente causador, a possibilidade de sinusite fúngica deve ser considerada em todos os pacientes (rinosinusite aguda ou crônica) que falham em responder a diferentes recursos de antibioticoterapia, uma vez que 10 a 20% dos pacientes com rinosinusite crônica submetidos à cirurgia têm como principal agente causador um fungo (4). Em um estudo conduzido por Singh

et al. (2005) (5) em que foi realizada a coleta de 251 secreções nasais de pacientes com suspeita de rinosinusite fúngica, 201 resultaram positivas.

A rinosinusite decorrente de resposta imune aos alérgenos

A prevalência de doenças respiratórias de origem alérgica tem aumentado significativamente nos últimos anos graças a fatores como o uso indiscriminado de antimicrobianos que causam alterações na resposta imune, o aumento da exposição a alérgenos intra-domiciliares devido ao aumento no tempo de permanência em ambientes fechados, a exposição a agentes poluentes e o contato freqüente com produtos químicos industrializados (6). Na população brasileira a prevalência de asma é de 21%, a de rinite alérgica 39%, e a de eczema atópico 8% (7).

Estudos sugerem que a rinosinusite pode ser uma complicação freqüente da rinite alérgica, uma vez que os alérgenos podem penetrar nos sinusóides causando um processo inflamatório (8, 9). Roupi *et al.* (1993) (10) demonstraram que 43% dos casos de rinosinusite eram sazonais, sendo que 25% destes eram de origem alérgica. Embora a rinosinusite esteja presente em proporções similares tanto em pacientes com ri-

nite alérgica como em pacientes sem rinite, a rinite alérgica crônica parece ser um fator predisponente para a rinosinusite bacteriana aguda (1).

O principal grupo de alérgenos capazes de desencadear a rinosinusite é constituído pelos ácaros. Pesquisas realizadas no Brasil constataram que os ácaros do gênero *Dermatophagoides pteronyssinus* são mais freqüentemente encontrados no ambiente doméstico e assim, provavelmente, um dos mais implicados com o aumento de alergias respiratórias (11, 12, 13). Neste sentido, nosso grupo está desenvolvendo uma pesquisa com pacientes de Presidente Prudente, SP, para tentar estabelecer uma correlação entre rinosinusite, polipose nasal, níveis de infestação por fungos e bactérias na mucosa nasal e alergia. Para tanto, além de marcadores laboratoriais como dosagem de IgE Total, pesquisa de eosinófilos e cultura de microrganismos em secreção nasal, também será analisado o nível de infestação de fungos e ácaros no pó domiciliar obtido na residência dos indivíduos que apresentarem Prick test positivo.

Dosagem de IgE total e específica e seu papel na rinosinusite

Foi sugerido que as células dendríticas e macrófagos epite-

liais capturam antígenos e os transportam para os linfonodos de drenagem, onde os processam e apresentam aos LT/CD4+ via MHC de classe II. Células dendríticas e macrófagos produzem IL-12 quando são ativadas por microrganismos, especialmente intracelulares, induzindo secreção de IL-2 e Interferon-gama (IFN- γ) por linfócitos, bem como sua diferenciação em linfócitos do tipo Th1, associados à imunidade celular. Por outro lado, quando a ativação se dá pela exposição a um alérgeno, há produção de IL-4 pelas células dendríticas levando à produção de IL-5 e IL-10 por LT efetores, os quais se diferenciam em linfócitos do tipo Th2, associados à imunidade humoral. De modo geral, antígenos "pequenos" (bactérias, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania sp.*) fagocitados por células dendríticas são bem processados e apresentados via MHC-II, estimulando os linfócitos Th1. Já antígenos "grandes" (helmintos, fungos (hifas), ácaros e pólen ou seus produtos) ao serem fagocitados pelas células dendríticas são mal processados e apresentados, estimulando os linfócitos Th2 (14).

As células B específicas para os alérgenos são ativadas pelas citocinas liberadas por linfócitos Th2 que promovem a troca do isótipo de cadeia pesada das imunoglobulinas, de modo que

o linfócito B passa a produzir IgE. A IL-5 secretada pelos linfócitos Th2, além de promover a secreção de IgE, também ativa eosinófilos, abundantes em muitas reações alérgicas imediatas. Na rinosinusite, a IL-13 que também é produzida nesse "milieu" de citocinas Th2, estimula a produção de muco pelas células epiteliais das vias aéreas, caracterizando e agravando o quadro.

Embora o aumento da concentração de IgE plasmática não diferencie indivíduos alérgicos de não alérgicos, observa-se aumento dos níveis de IgE sérica nos indivíduos com quadros mais graves de atopia. Assim, indivíduos com asma apresentam valores plasmáticos de IgE muito maiores que indivíduos com rinite (15). Valores bem maiores de IgE total foram encontrados em indivíduos alérgicos comparado aos indivíduos do grupo controle em uma triagem populacional realizada na cidade de Porto Alegre, RS (6). Na rinosinusite, embora não tenha valor preditivo, a IgE contribui para o aparecimento e agravamento da doença. Assim, a dosagem de IgE específica para determinado alérgeno deve ser solicitada pelo médico sempre que necessário para auxiliar no diagnóstico e tratamento de pacientes atópicos.

A IgE específica para o alér-

geno produzida pelas células B entra na circulação e se liga aos receptores para a região Fc de Imunoglobulinas nos mastócitos dos tecidos, de modo que essas células ficam sensibilizadas e prontas para reagir a um encontro subsequente com o alérgeno (14, 16). A determinação do nível de anticorpos IgE específicos permite a identificação do alérgeno fornecendo uma medida objetiva do grau de sensibilização do paciente, podendo auxiliar nas decisões clínicas (8).

Em um grupo de crianças alérgicas na cidade de São Paulo, SP, Rizzo *et al.* (1997) (17) encontraram valores elevados de IgE específica contra diferentes ácaros, especialmente *D. farinae* e *D. pteronyssus*. Resultados semelhantes foram descritos por Naspitz *et al.* (18) ao avaliarem a sensibilidade a inalantes e alimentos alérgenos em crianças procedentes de cinco regiões brasileiras.

Tem sido proposto que IgE específica contra superantígenos de *S. aureus* estão diretamente envolvidos na patogênese da rinosinusite associada aos pólipos nasais (Meltzer *et al.* 2004). Diversos estudos de IgE específica em pacientes acometidos por rinosinusite mostram que esta técnica apresenta ótimos resultados no auxílio para escolha do tratamento destes pacientes. Entretanto estes

testes são relativamente mais caros que os de IgE total, sendo necessário estabelecer e adquirir um conjunto de alérgenos candidatos a possível sensibilização para que seja viável sua utilização. A primeira técnica de dosagem de IgE específica com boa acurácia desenvolvida foi o RAST (Radioallergosorbent test). Atualmente são também utilizados marcadores enzimáticos (ELISA), dispensando o uso de radioimunoensaio.

O papel dos eosinófilos e da Proteína Catiônica Eosinofílica (ECP) na rinosinusite de origem alérgica e sua determinação em diferentes materiais biológicos

A associação entre eosinófilos e rinosinusite é amplamente vista na bibliografia, porém pouco se sabe sobre o papel que eles têm no mecanismo fisiopatológico desta doença. A eosinofilia frequentemente está associada à hipersensibilidade mediada por IgE sendo controlada por citocinas inflamatórias de padrão Th2.

Como visto anteriormente, a IL-5 sinaliza a medula óssea para a produção e ativação de eosinófilos que são recrutados para o interior das vias aéreas. Assim como os basófilos, os eosinófilos na circulação também podem se ligar a IgE. Estudos recentes propõem mecanismos que promovem a infiltração eo-


sinofílica induzida por superantígeno na rinosinusite crônica, sinusite alérgica fúngica, rinosinusite crônica eosinofílica fúngica não-alérgica e rinosinusite crônica eosinofílica desencadeada por aspirina (1).

A rinosinusite sem pólipos nasais é caracterizada pela inflamação com predominância de neutrófilos e poucos eosinófilos, por outro lado quando os pólipos nasais estão presentes observa-se inflamação eosinofílica com aumento de IL-5 que tem valor prognóstico à intervenção cirúrgica (19). Na rinosinusite a presença de infiltrado eosinofílico ao exame histopatológico geralmente está associada com a severidade da doença. Dessa forma, os eosinófilos não só defendem o hospedeiro, como também podem contribuir para a manutenção da injúria tecidual causada pelo agente invasor, além de desempenhar um papel imunorregulatório.

A pesquisa de eosinófilos pode ser realizada tanto nos pólipos nasais quanto em material extraído da mucosa nasal. Quando ativados, os eosinófilos liberam as chamadas proteínas eosinofílicas, que são a proteína eosinofílica catiônica (ECP), a proteína eosinofílica principal (MBP) e a peroxidase eosinofílica (EPO). Estas proteínas têm atividade pró-inflamatória, estimulam a degranulação dos mastócitos e basófilos e

a secreção de muco, e provocam o descolamento do epitélio brônquico (Meltzer *et al.* 2004). Além disso, uma relação entre o aumento de eosinófilos no sangue periférico e a rinosinusite crônica pode ser estabelecida (1).

A ECP pode ser quantificada no soro ou no plasma por método fluorimétrico. No caso da rinosinusite o material biológico mais indicado é a lavagem nasal, por apresentar melhor correlação entre a presença e ativação de eosinófilos e mastócitos e o processo inflamatório local. Galvão *et al.* (2004) (20), analisando amostras de lavado nasal, provenientes de escolares nas cidades de Atibaia e São Paulo, SP, observaram que os níveis de ECP estavam significativamente aumentados em crianças alérgicas, com problemas respiratórios e Prick-test positivo em comparação às crianças não alérgicas.

Assim, uma vez que a rinosinusite é um processo mórbido desencadeado por diferentes agentes, a determinação *in vitro* de marcadores biológicos propicia ao clínico ou especialista, informações relevantes que podem auxiliar no diagnóstico diferencial e na estratégia terapêutica. 

Correspondências para:

Luiz Euribel Prestes-Carneiro
luiz@unoeste.br

Referências Bibliográficas

1. Meltzer EO, Hamilos DL, Hadley JA, Lanza DC, Marple BF, Nicklas RA, Bachert C. Rhinosinusitis: establishing definitions for clinical research and patient care. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;114(6 Suppl): 155-212.
2. Weckx LL, Campos CA, Sakano E, Pignatari SS, Figueiredo CR. An open multicenter study of the use of gatifloxacin for the treatment of non-complicated acute bacterial rhinosinusitis in adults. *Braz J Infect Dis*. 2005; 9(2): 162-8.
3. Tripathi A, Kern R, Conley DB, Seiberling K, Klemens JC, Harris KE, Suh L, Huang J, Grammer LC. Staphylococcal exotoxins and nasal polyposis: analysis of systemic and local responses. *Am J Rhinol*. 2005; 19(4): 327-33.
4. Monteiro CR, França AT, França AT, Tomita S, Rodrigues FA. Allergic fungal sinusitis: an update. *Rev Bras Otorrin*. 2005; 736-742.
5. Singh N, Bhalodiya NH. Allergic fungal sinusitis (AFS)--earlier diagnosis and management. *J Laryngol Otol*. 2005; 119(11):875-81
6. Spalding SM, Wald V, Bernd LA. [Total serum IgE level in atopic and non-atopic individuals in Porto Alegre] *Rev Assoc Med Bras*. 2000; 46(2): 93-7
7. Sole D, Yamada E, Vana AT, Werneck G, Solano de Freitas L, Sologuren MJ, Brito M, Rosario Filho NA, Stein RT, Mallol J. International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): prevalence of asthma and asthma-related symptoms among Brazilian schoolchildren. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2001; 11(2): 123-8
8. Bachert C, Gevaert P, Holtappels G, Johansson SG, van Cauwenberge P. Total and specific IgE in nasal polyps is related to local eosinophilic inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2001; 107(4): 607-14.
9. Bachert C. Allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA)--what does it mean for the future of SIT? *Arb Paul Ehrlich Inst Bundesamt Sera Impfstoffe Frankf A M*. 2003; (94): 229-35.
10. Ruoppi P, Seppa J, Nuutinen J. Acute frontal sinusitis: etiological factors and treatment outcome. *Acta Otolaryngol*. 1993; 113(2):201-5.
11. da Silva DR, Binotti RS, da Silva CM, de Oliveira CH, Condino-Neto A, de Capitani EM. Mites in dust samples from mattress surfaces from single beds or cribs in the south Brazilian city of Londrina. *Pediatr Allergy Immunol*. 2005; 16(2): 132-6.
12. Terra SA, Silva DA, Sopenete MC, Mendes J, Sung SJ, Taketomi EA. Mite allergen levels and acarologic analysis in house dust samples in Uberaba, Brazil. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2004; 14(3): 232-7.
13. de Oliveira CH, Binotti RS, Muniz JR, dos Santos JC, do Prado AP, de Pinho AJ Jr. Comparison of house dust mites found on different mattress surfaces. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2003; 91(6): 559-62.
14. Abbas AK, Murphy KM, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature*. 1996; 383(6603): 787-93.
15. Fleck O. Sinusite e asma: uma associação frequente. *Ver Bras Otorrin*. 1989; 55: 158-162.
16. Bernstein JM, Ballou M, Rich G, Allen C, Swanson M, Dmochowski J. Lymphocyte subpopulations and cytokines in nasal polyps: is there a local immune system in the nasal polyp? *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2004; 130(5):526-35.
17. Rizzo MC, Fernandez-Caldas E, Sole D, Naspitz CK. IgE antibodies to aeroallergens in allergic children in Sao Paulo, Brazil. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 1997; 7(4): 242-8.
18. Naspitz CK, Sole D, Jacob CA, Sarinho E, Soares FJ, Dantas V, Mallozi MC, Wandalsen NF, Borges W, Rocha Filho W; Grupo PROAL. [Sensitization to inhalant and food allergens in Brazilian atopic children by in vitro total and specific IgE assay. Allergy Project--PROAL] *J Pediatr (Rio J)*. 2004; 80(3):203-10.
19. Ferguson BJ. Categorization of eosinophilic chronic rhinosinusitis. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2004; 12(3): 237-42.
20. Galvão CE, Saldiva PH, Kalil Filho JE, Castro FF. Inflammatory mediators in nasal lavage among school-age children from urban and rural areas in Sao Paulo, Brazil. *Sao Paulo Med J*. 2004; 122(5): 204-7.