

Le origini di un concetto*

L'ipotesi dello squilibrio proteasi-antiproteasi

Gerard M. Turino, MD

(*CHEST Edizione Italiana 2002; 4:58-60*)

Una delle aree di ricerca più intense nel campo della patologia polmonare negli ultimi 40 anni è stata l'indagine sui meccanismi di distruzione parenchimale nel polmone da parte di enzimi proteolitici in vivo che causano l'enfisema polmonare e la BPCO. Vale la pena di raccontare dettagliatamente come si sviluppò questa direzione di ricerca poiché ciò mostra come approcci sperimentali abbastanza differenti portati avanti in diverse parti del mondo approssimativamente nello stesso periodo possano far nascere nuove intuizioni concettuali che indicano la strada per quelle che erano allora direzioni di ricerca completamente nuove.

Siamo nel maggio 1958 ad un convegno della Association of American Physicians all'Hotel Haddenhall di Atlantic City. Questi convegni erano sorte di pellegrinaggi annuali da parte sia di giovani che di "veterani" che appartenevano agli "young young Turks" (l'American Federation for Clinical Research), agli "young Turks" (l'American Society for Clinical Investigation), e agli "old Turks" (l'Association of American Physicians). Il convegno non era l'assemblea plenaria dell'Association of American Physicians, bensì il secondo giorno di riunioni, in cui le relazioni erano presentate a gruppi meno numerosi nel solarium dell'Haddenhall Hotel. Questo giorno presentò una relazione^{1,2} Robert McCluskey del Department of Pathology Lewis Thomas dell'Università di New York. Lo scopo della presentazione era di dimostrare la capacità di una proteasi grezza, in questo caso la papaina, di degradare la cartilagine con grande rapidità quando iniettata endovena. Al convegno fu esibito un esempio eclatante di questo effetto: delle diapositive che mostravano come le orecchie di conigli vivi potessero esser fatte afflosciare dopo qualche ora dall'iniezione, attraverso la

degradazione della cartilagine e l'escrezione nelle urine di condroitinsolfato (Figura 1). Fu anche mostrato che il rammollimento della cartilagine che portava all'afflosciarsi delle orecchie era reversibile in 3-4 giorni, dopo i quali le orecchie dei conigli erano di nuovo diritte, come risultato del riempimento della cartilagine auricolare con condroitinsolfato. Questa fu quindi la dimostrazione dell'effetto piuttosto specifico di un enzima sulla cartilagine, effetto che poteva essere applicato per analizzare il ruolo di vari componenti del tessuto connettivo nel comportamento meccanico delle vie aeree nel polmone.

Mentre la papaina poteva essere usata per degradare la cartilagine della trachea e dei bronchi dei mammiferi, erano disponibili altri enzimi ragionevolmente specifici per degradare altre componenti del tessuto connettivo, come le elastasi estratte da pancreas porcino o bovino e la collagenasi ottenuta da clostridi. L'uso di questi enzimi in polmoni animali dimostrò la rapida capacità che possedevano nel degradare l'elastina ed il collagene, così come la cartilagine, e le conseguenze di questa degradazione in termini di caratteristiche meccaniche di distensibilità e rigidità correlate alle modificazioni nella morfologia delle vie aeree.³⁻⁵

Nel 1963, Laurell ed Erickson⁶ pubblicarono un classico articolo sull'osservazione che i membri di famiglie con ridotte concentrazioni sieriche di α_1 -antitripsina mostrano una elevata prevalenza di enfisema polmonare, sia nei maschi che nelle femmine, e in più giovane età rispetto alla consueta popolazione di fumatori che acquisisce l'enfisema. La comprensione di come esattamente il difetto ereditario di questa proteina serica potesse essere correlato con la distruzione parenchimale polmonare si stava sviluppando in alcuni laboratori in America.

Nel 1965, Gross et al,⁷ dell'Università di Pittsburgh, dimostrarono che la papaina e la polvere di quarzo degradano il tessuto polmonare dei topi determinando una distruzione parenchimale che assomiglia all'enfisema centrolobulare e panacinare. Altri enzimi come l' α -chimotripsina associata a polvere di quarzo non determinavano distruzione enfisematosa. Perché la papaina fosse stata selezionata per questi studi non è specificato, ma la papaina era nota per le sue potenti proprietà elastolitiche nei tessuti.⁸

A partire dalla metà degli anni '60, i Dott. Janoff e Scherer,⁹ che lavoravano alla New York University,

*Dal Department of Medicine, Columbia University College of Physicians and Surgeons, e James P. Mara Center for Lung Disease, St. Luke's-Roosevelt Hospital, New York, NY. Manoscritto ricevuto il 21 marzo, 2002; revisione accettata il 23 aprile, 2002.

Corrispondenza: Gerard M. Turino, MD, Department of Medicine, Columbia University College of Physicians and Surgeons, St. Luke's-Roosevelt Hospital, New York, NY 10019; e-mail: gmt1@columbia.edu

(*CHEST 2002; 122:1058-1060*)

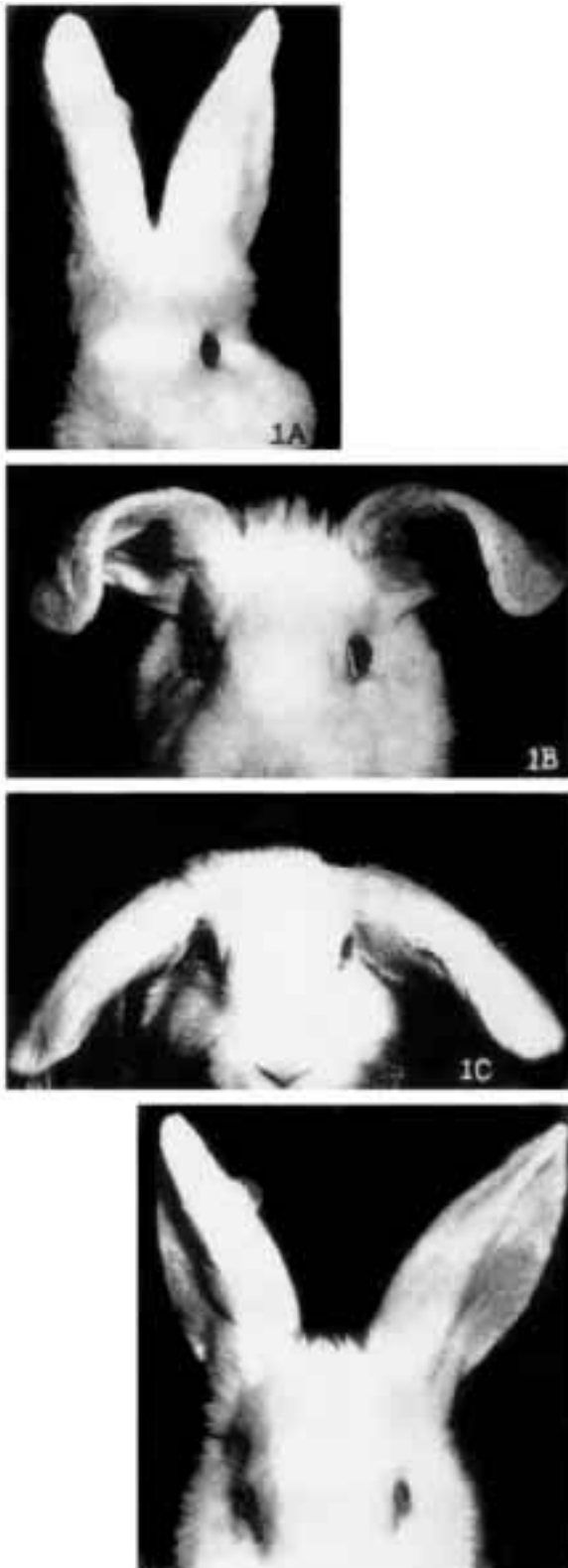


FIGURA 1. Effetti sulla cartilagine auricolare di coniglio di una iniezione e.v. di una soluzione di papaina grezza. 1A: prima dell'iniezione. 1B: dopo 3-4 ore le punte delle orecchie cominciano a piegarsi e curvarsi verso il basso. 1C: durante le ore successive c'è una progressiva perdita di rigidità e l'afflosciamento delle orecchie. Dopo 3 o 4 giorni le orecchie divengono nuovamente diritte ed erette (ultima foto).

dimostrarono che i normali leucociti neutrofili umani contenevano una potente elastasi serinica. Questa elastasi poteva perciò agire sul tessuto polmonare in circostanze normali, giungendovi attraverso i vasi polmonari e i normali elementi cellulari circolanti che attraversano i polmoni. Studi successivi avrebbero mostrato che il siero di pazienti con deficit di α_1 -antitripsina è privo di capacità inibitoria specificamente per l'elastasi.¹⁰ Studi successivi dimostrarono elegantemente gli effetti morfologici e meccanici delle elastasi nei polmoni animali, al fine di ottenere un utile modello di enfisema polmonare, usando la papaina¹¹ e l'elastasi neutrofila.¹² Pertanto, quattro serie di osservazioni portarono tutte all'ipotesi dello squilibrio proteasi/antiproteasi per lo sviluppo del danno parenchimale nell'enfisema polmonare: (1) la comprensione delle potenzialità biologiche delle elastasi e di altri enzimi elastolitici nella degradazione dell'elastina, (2) l'identificazione di una proteasi che possedeva proprietà elastolitiche in grado di produrre un modello animale che approssimava l'enfisema nell'uomo, (3) il riconoscimento che l' α_1 -antitripsina era un principale inibitore specifico per l'elastasi neutrofila e (4) la dimostrazione che una deficienza geneticamente determinata dell' α_1 -antitripsina serica si associava allo sviluppo di enfisema polmonare in giovane età sia nei non fumatori che nei fumatori.

Non c'è bisogno di ricordare che l'ipotesi proteasi/antiproteasi è stata un'utile impalcatura nelle ultime 4 decadi per la ricerca volta a definire i meccanismi cellulari e biochimici sottostanti l'enfisema polmonare.¹³ Questo primo gruppo di studi sulle proteasi e l'aspettativa di comprendere l'enfisema attraverso l'ipotesi dello squilibrio proteasi-antiproteasi rappresentarono un forte impulso per lo sviluppo di nuove direzioni di ricerca in patologia polmonare nell'appena formata Division of Lung Disease del National Heart, Lung, and Blood Institute diretto da Claude Lenfant e confluirono in un fondamentale "task force report" nel 1972.¹⁴

Attualmente, è chiaro che c'è ancora bisogno di definire quali proteasi sono critiche per lo sviluppo della distruzione alveolare nell'enfisema polmonare nell'uomo. Ciò nonostante, il terreno è pronto per lo sviluppo di inibitori sintetici che contrastino gli effetti delle elastasi neutrofile, così come per aerosol di α_1 -antitripsina umana o ricombinante,¹⁵ e per componenti della matrice connettivale come l'acido ialuronico¹⁶ che proteggano la matrice polmonare, specificatamente l'elastina, dagli effetti degradanti delle elastasi dei neutrofili e dei macrofagi. Perciò è probabile che un certo numero di agenti terapeutici si sviluppino a partire da una serie di osservazioni sperimentali e cliniche largamente indipendenti ma tutte indicanti l'ipotesi proteasi/antiproteasi come causa della BPCO e dell'enfisema polmonare.

BIBLIOGRAFIA

- 1 McCluskey RT. The *in vivo* removal of cartilage matrix by crystalline papain protease, and the prevention of recovery by a direct action of cortisone on cartilage. *Trans Assoc Am Phys* 1958; 71:297–305
- 2 Thomas L. Reversible collapse of rabbit ears after intravenous papain, and prevention of recovery by cortisone. *J Exp Med* 1956; 104:245–251
- 3 Turino GM, Goldring RM, Katz LM. The effect of experimental bronchomalacia on pulmonary mechanics [abstract]. *J Clin Invest* 1961; 40:1086
- 4 Turino GM, Lourenco RV, McCracken GH. The role of connective tissue elements in the function of large pulmonary airways [abstract]. *Fed Proc* 1962; 21:446
- 5 Turino GM, Lourenco RV, McCracken GH. The role of connective tissues in large pulmonary airways. *J Appl Physiol* 1968; 25:645–653
- 6 Laurell CB, Eriksson S. The electrophoretic α_1 -globulin pattern of serum in 1-antitrypsin deficiency. *Scand J Clin Invest* 1963; 15:132–140
- 7 Gross P, Pfitzer EA, Toker E, et al. Experimental emphysema: its production with papain in normal and silicotic rats. *Arch Environ Health* 1965; 11:50–58
- 8 Lewis UJ, Williams DE, Brink NG. Pancreatic elastase: purification, properties and function. *J Biol Chem* 1956; 222:705–720
- 9 Janoff A, Scherer J. Mediators of inflammation in leukocyte lysosomes: IX. Elastolytic activity in granules of human polymorphonuclear leukocytes. *J Exp Med* 1968; 128:1137–1155
- 10 Turino GM, Senior RM, Garg GD, et al. Serum elastase inhibitor deficiency and 1-antitrypsin deficiency in patients with obstructive emphysema. *Science* 1969; 165:709–711
- 11 Snider GL, Hayes JA, Franzblau C, et al. Relationship between elastolytic activity and experimental emphysema inducing properties of papain preparations. *Am Rev Respir Dis* 1974; 110:254–262
- 12 Senior RM, Tegner H, Kuhn C, et al. The induction of pulmonary emphysema with leukocyte elastase. *Am Rev Respir Dis* 1977; 116:469–475
- 13 Janoff A. Elastases and emphysema: current assessment of the protease-antiprotease hypothesis. *Am Rev Respir Dis* 1985; 132:417–433
- 14 National Heart, Lung, and Blood Institute Task Force report on problems, research approaches, and needs. Washington, DC: Department of Health, Education, and Welfare, 1972; publication no. 73; 432
- 15 Barnes PJ. Chronic obstructive pulmonary disease: new opportunities for drug development. *Trends Pharmacol Sci* 1998; 19:415–423
- 16 Cantor JO, Shteyngart B, Cerreta JM, et al. The effect of hyaluronan on elastic fiber injury in vitro and elastase-induced airspace enlargement in vivo. *Proc Soc Exp Biol Med* 2000; 225:65–71