

COMPORTAMENTUL SERIC AL ADENOZINDEAMINAZEI ȘI AL IZOENZIMELOR SALE LA PACIENȚII CU URTICARIE

BEHAVIOR OF SERUM ADENOSINE DEAMINASE AND ITS ISOENZYMES IN PATIENTS WITH URTICARIA

ILINCA NICOLAE*, LUCIA DINU**, GABRIELA COMAN *, MARILENA CIORTEA**,
LUCREȚIA DULGHERU*, ALINA MUSETESCU*, SIMONA ROXANA GEORGESCU*,***

Rezumat

Urticaria este o afecțiune inflamatorie complexă, cu cauze adesea neidentificate și cu mecanisme etiopatogenice incomplet elucidate. Scopul lucrării este reprezentat de determinarea profilului seric al adenozindeaminazelor (ADA totală, ADA-1, ADA-2), mediatori endogeni posibil implicați în persistența și rezoluția urticariei spontane. Pe baza activității lor enzimatică, determinate la 84 pacienți cu urticarie acută spontană, 60 pacienți cu urticarie cronică spontană și 64 voluntari sănătoși, s-a constatat că: în serul uman au fost detectate două izoenzime ADA-1 și ADA-2, pe baza cărora se pot diferenția cele două tipuri de urticarie. Autorii admit că modularea activității adenozindeaminazelor ar putea influența rezoluția urticariei.

Cuvinte cheie: urticarie, adenozindeaminaza și izoenzime, histamina, adenosina, metaboliți purinici.

Intrat în redacție: 15.03.2018

Acceptat: 9.05.2018

Summary

Urticaria is a complex inflammatory disease, with often unidentified causes and incompletely elucidated etiopathogenic mechanisms. The purpose of the paper is to determine the serum profile of adenosine deaminases (total ADA, ADA-1, ADA-2), endogenous mediators possibly involved in the persistence and resolution of spontaneous urticaria. Based on the enzymatic activities determined in 84 patients with spontaneous acute urticaria, 60 patients with spontaneous chronic urticaria and 64 healthy volunteers, it was found that: two ADA-1 and ADA-2 isoenzymes were detected in the human serum, based on which the two types of urticaria can be differentiated. The authors acknowledge that modulation of adenosine deaminase activity could influence urticaria resolution.

Key words: urticaria, adenosine deaminase and isoenzymes, histamine, adenosine, purine metabolites.

Received: 15.03.2018

Accepted: 9.05.2018

Introducere

Urticaria constituie o afecțiune caracterizată prin manifestări clinice diverse, care constau în modificări la nivelul tegumentului și uneori al mucoaselor. Boala evoluează cu perioade de exacerbări și remisiuni spontane. Urticaria trebuie privită ca un pattern reactiv clinic, cu

Introduction

Urticaria is a condition characterized by various clinical manifestations, which consist of changes in the skin and sometimes in the mucous membranes. The disease evolves with periods of exacerbations and spontaneous remissions. Urticaria should be seen as a clinical reactive

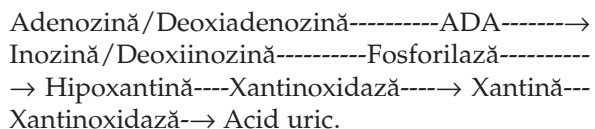
* Laborator Cercetare Dermatovenerologie, Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale V. Babeș.
Dermatovenerology Research Laboratory, Clinical Hospital for Infectious and Tropical Diseases "V Babeș".

** Clinica MedLife, București.
MedLife Clinic, Bucharest.

*** UMF „Carol Davila”, București.
University of Medicine and Pharmacy "Carol Davila", Bucharest.

etiologii multiple și simptomatologie complexă. Studiile paraclinice dedicate identificării mecanismelor etiopatogenice implicate în dezvoltarea urticariei sunt ample și includ interferențe între imunitate, inflamație, stres oxidativ, status neuroendocrin. Indiferent de agentul cauzal din urticarie, se produce o lezare tisulară care induce modificarea permeabilității membranei celulare. Mastocitele, bazofilele și keratinocitele sintetizează și secretă niveluri semnificative de histamină în spațiul extracelular, mediatorul cheie în urticarie[1]. Eliberarea histaminei în spațiul interstițial este modulată de numeroși stimuli. Unul dintre mediatorii endogeni implicați în reglarea eliberării histaminei din bazofilele și celulele enterocromafine, în semnalizarea celulară, în conexiunile imunologice și inflamatorii din țesuturile lezate este adenzina [1, 2, 3,4,5,6]. Biodisponibilitatea extracelulară a adenzinei este limitată de adenzindeaminază, enzima care catalizează deaminarea hidrolitică a adenzinei[6]. Luând în considerare interacțiunea dintre adenzină și histamină în urticarie, putem aprecia că eliberarea adenzinei în spațiile extracelulare promovează un feedback negativ, semnalizând inducerea ADA. Sinteza ADA este stimulată în țesuturile supuse unor insulte acute, stresului metabolic, hipoxiei sau unui proces inflamator [6]. Activitatea ADA este accelerată de Zn²⁺, Co²⁺, estradiol, IGF-1, simvastatin. În plus, ADA este inhibată de Hg²⁺, Cd²⁺, gp120, progesteron, IL-13, curcumin, urzică, coformicin, inhibitori DPP4[7,8,9].

Adenzindeaminaza (ADA, E.C.3.5.4.4) este o aminohidrolază Zn – dependentă, larg distribuită în organism, care prezintă specificitate pentru diferiți analogi nucleozidici. ADA catalizează conversia ireversibilă a adenzinei și a deoxiadenzinei la inozina și, respectiv, deoxiadenzină, conform următoarei scheme:



ADA joacă un rol important în inițierea unei varietăți de răspunsuri celulare, incluzând metabolismul purinic, dezvoltarea și menținerea sistemului imun, diferențierea celulelor epiteliale, neurotransmisia, menținerea gestației, îmbă-

pattern with multiple aetiologies and complex symptomatology. Paraclinical studies dedicated to identifying the etiopathogenic mechanisms involved in the development of urticaria are ample and include interference between immunity, inflammation, oxidative stress, neuroendocrine status. Regardless of causative agent in urticaria, there is a tissue injury that induces cell membrane permeability alteration. Mast cells, basophils and keratinocytes synthesize and secrete significant levels of histamine in the extracellular space, the key mediator in urticaria [1]. The release of histamine into the interstitial space is modulated by numerous stimuli. Adenosine is one of the endogenous mediators involved in regulating histamine release from basophils and enterochromaffin cells, in cell signalling, in immunological and inflammatory connections in injured tissues [1, 2, 3,4,5,6]. The extracellular bioavailability of adenosine is limited by adenosine deaminase, the enzyme catalysing the hydrolytic deamidation of adenosine [6]. Considering the interaction between adenosine and histamine in urticaria, we can assume that adenosine release in extracellular spaces promotes a negative feedback, indicating ADA induction. ADA synthesis is stimulated in tissues subjected to acute insults, metabolic stress, hypoxia, or an inflammatory process[6]. ADA activity is accelerated by Zn²⁺, Co²⁺, estradiol, IGF-1 (insulin-like growth factor 1), simvastatin. In addition, ADA is inhibited by Hg²⁺, Cd²⁺, gp120, progesterone, IL-13, curcumin, nettle, coformycin, DPP4 inhibitors [7,8,9].

Adenosine deaminase (ADA, E.C.3.5.4.4) is a Zn-dependent amino-hydrolase largely distributed in the body that has specificity for different nucleoside analogues. ADA catalyses the irreversible conversion of adenosine and deoxyadenosine to inosine and deoxyadenosine, respectively, according to the following scheme: Adenosine / Deoxyadenosine -----ADA-----> Inosine / Deoxyinosin----- Phosphorylase ----> Hypoxanthine---- Xanthine oxidase ----> Xanthine ----- Xanthine oxidase-> Uric acid.

ADA plays an important role in initiating a variety of cellular responses, including purine metabolism, immune system development and maintenance, epithelial cell differentiation, neurotransmission, gestation maintenance,

trânire, adeziunea celulară, reglarea răspunsurilor imune și stresului metabolic, semnalizarea celulară. ADA este un reglator negativ al receptorilor de adenzină, al ciclului circadian, al răspunsului inflamator, al migrației leucocitelor, al procesului apoptotic al celulelor B mature și al timocitelor. ADA este un modulator indirect al eliberării histaminei din bazofile, al sintezei de IL-6, IL-1beta, IL-2. ADA este un reglator pozitiv al diferențierii celulelor T, al proliferării celulelor B, al semnalizării mediată de calciu, al ritmului cardiac, al contracției musculaturii netede, al reglării afinității liganzilor față de receptorii celulelor T [6,7,8,9]. Au fost identificate două izoenzime, desemnate ADA-1 și ADA-2, care se diferențiază prin natura informației genetice, prin proprietățile cinetice, specificitatea de substrat, greutatea moleculară, distribuția tisulară [2,4,6,10-19]. ADA-1 este izoformă majoră, locus genic 20q11.3, care reduce nivelul intracelular al adenzinei și previne limfotoxicitatea acestui nucleozid. Este larg răspândită în diferite țesuturi, cea mai mare concentrație înregistrându-se în cecum și cea mai mică în splină. ADA-1 a fost identificată în mai multe variante moleculare (forma monomer și forma homodimer complexată cu glicoproteine membranare). ADA-1 varianta monomerică este compusă dintr-un lanț polipeptidic de 363 resturi de aminoacizi și o greutate moleculară de 38KDa, localizată preferențial în citoplasmă și nucleu. Varianta complexă a enzimei este constituită din homodimerul ADA-1 cuplat cu două molecule CD26/DPP4, de 300KDa, localizată în membrana plasmatică și orientată cu centrul catalitic activ spre exterior. ADA-2 este izoenzima minoră, de 110KDa, locus genic 22q 11.2, a fost detectată în splină, monocite și macrofage. ADA-2 este forma dominantă din plasmă și ser. ADA-1 prezintă stabilitate termică crescută în comparație cu ADA-2. ADA-2 are o afinitate scăzută pentru adenzină și activitate catalitică mai redusă față de deoxadenzină în comparație cu ADA-1 [7, 10-20].

În condiții fiziologice, ADA măsurată în ser este reprezentată în cea mai mare parte de ADA-2 și o mică porțiune este reprezentată de ADA-1. Valori crescute ale ADA au fost raportate în unele afecțiuni dermatologice, precum psoriazis, lupus eritematos, alopecia areată [9-15,19, 20].

aging, cell adhesion, immune response and metabolic stress regulation, cell signalling. ADA is a negative regulator of adenosine receptors, circadian cycle, inflammatory response, leucocyte migration, apoptotic process of mature B cells and thymocytes. ADA is an indirect modulator of histamine release from basophils, of IL-6, IL-1beta, IL-2 synthesis. ADA is a positive regulator of T cell differentiation, B cell proliferation, calcium mediated signalling, cardiac rhythm, smooth muscle contraction, regulation of ligand affinity for T cell receptors [6,7,8,9]. Two isoenzymes, designated ADA-1 and ADA-2, which differ in the nature of genetic information, kinetic properties, substrate specificity, molecular weight, tissue distribution [2,4,6,10-19], have been identified. ADA-1 is the major isomorph, the 20q11.3 gene locus, which reduces the intracellular adenosine level and prevents the lymphotoxicity of this nucleoside. It is widely spread in different tissues, with the highest concentration being recorded in the cecum and the smallest in the spleen. ADA-1 has been identified in several molecular variants (monomeric form and homodimer complex with membrane glycoproteins). The ADA-1 monomeric variant is composed of a polypeptide chain of 363 amino acid residues and a molecular weight of 38KDa, preferentially located in the cytoplasm and nucleus. The complex variant of the enzyme is composed of the ADA-1 homodimer coupled with two 300 kDa CD26/DPP4 molecules, located in the plasma membrane and oriented with the active catalytic centre towards the outside. ADA-2 is the minor isoenzyme of 110KDa, the 22q 11.2 gene locus; it has been detected in the spleen, monocytes and macrophages. ADA-2 is the dominant form of plasma and serum. ADA-1 shows increased thermal stability compared to ADA-2. ADA-2 has a lower affinity for adenosine and lower catalytic activity to deoxyadenosine compared to ADA-1 [7, 10-20].

Under physiological conditions, ADA measured in the serum is predominantly represented by ADA-2 and a small portion is represented by ADA-1. Elevated ADA levels have been reported in some dermatological conditions, such as psoriasis, lupus erythematosus, alopecia areata [9-15,19, 20].

Obiectivul acestui studiu este reprezentat de investigarea activității izoenzimelor ADA, factori endogeni posibil implicați în întreținerea și rezoluția urticariei.

Material și metodă

Pacienții au fost selectați din rândul persoanelor care s-au prezentat la consultații în urma sesizării unei erupții cutanate eritemato-scuamoase, pruriginoase sau însoțite de senzație de arsură/durere și/sau în urma apariției edemului țesutului celular subcutanat sau submucos [1]. Dintre aceștia, au fost selectați 82 pacienți cu urticarie acută spontană, 60 cu urticarie cronică spontană pentru determinări paraclinice destinate unei posibile implicări a semnalizării purinergice în urticarie, studiu inițiat în Laboratorul de Cercetare Dermatologie-Spitalul de boli infecțioase și tropicale Victor Babeș, București.

Criteriile de includere în studiu:

- adulți, cu vârsta peste 20 ani;
- pacienți diagnosticați cu urticarie acută spontană, urticarie cronică spontană;
- status nutrițional adecvat;
- fără tratament pentru boală de bază anterior includerii în studiu;
- persoane de la care s-a obținut consimțământul informat.

Criteriile de excludere din studiu

- consumul cronic de alcool, de droguri;
- tratament cu corticoizi, imunosupresoare, suplimente nutritive;
- sarcină și alăptare.

Analize de laborator. Pe lângă analizele microbiologice, coproparazitologice, alergologice, serologice, hematologice și biochimice s-a analizat variația activităților ADA, ADA-1, ADA-2 în faza preterapeutică la pacienții cu urticarie versus control. Activitatea ADA s-a determinat prin tehnica colorimetrică [17]. Diferențierea între ADA-1 și ADA-2 s-a realizat prin utilizarea unui inhibitor specific (eritro-9-2-hidroxi-nonil-adenină, EHNA) care inactivează ADA-1. Activitatea enzimatică a fost exprimată în U/L ser [9,17].

Analiza statistică. Compararea rezultatelor experimentale între loturi pentru variabile cantitative s-a realizat folosind testele t sau

The objective of this study is to investigate the activity of ADA isoenzymes, endogenous factors possibly involved in the maintenance and resolution of urticaria.

Material and method

Patients were selected from amongst those who had been consulted following a skin rash, an eritemato-squamous rash and a pruritic rash or a rash accompanied by a burning sensation/pain and/or subcutaneous or submucosal cellular tissue oedema [1]. Of these, there were selected 82 patients with acute spontaneous urticaria, 60 with chronic spontaneous urticaria for paraclinical determinations intended for a possible involvement of purinergic signalling in urticaria, study initiated in the Dermatology Research Laboratory of the Victor Babes Hospital for Infectious and Tropical Diseases, Bucharest.

Inclusion criteria for participation in the study:

- adults, aged over 20;
- patients diagnosed with acute spontaneous urticaria, chronic spontaneous urticaria;
- adequate nutritional status;
- no treatment for the underlying disease prior to inclusion;
- persons from whom informed consent was obtained.

Exclusion criteria for participation in the study

- chronic alcohol, drug abuse;
- treatment with corticosteroids, immunosuppressants, nutritional supplements;
- pregnancy and breastfeeding.

Laboratory tests. In addition to the microbiological, coproparasitological, allergological, serological, haematological and biochemical analyses, there was analysed the variation of ADA, ADA-1, ADA-2 activities in the pre-therapeutic phase in patients with urticaria versus controls. ADA activity was determined by colorimetric technique [17]. The differentiation between ADA-1 and ADA-2 was achieved using a specific inhibitor (erythro-9-2-hydroxy-nonyl-adenine, EHNA) that inactivates ADA-1. Enzymatic activity was expressed in U/L serum [9,17].

Table 1. Distribuția activității ADA (U/L ser) în funcție de vârstă și sex la control
 Table 1. Distribution of ADA activity (U/L serum) depending on age and sex at controls

Sex/Sex	Vârsta/Age	n/n	Media/Average	Deviația standard Standard deviation	Minimum Minimum	Maximum Maximum
Bărbați/Men	20-29	6	11.9	2.0	9.9	13.4
	30-39	4	11.4	1.2	10.9	13.0
	40-49	9	12.9	1.9	11.4	15.1
	50-59	5	14.3	1.2	12.7	15.4
	60-69	2	13.7	1.0	12.6	14.8
	>70	4	13.3	1.7	11.6	14.9
		30	13.0	2.1	10.9	15.3
Femei/Women	20-29	5	12.1	1.3	10.8	13.2
	30-39	4	11.6	0.9	10.7	12.4
	40-49	10	11.8	1.2	10.7	13.1
	50-59	8	13.6	2.4	11.7	16.2
	60-69	4	14.7	1.0	13.1	15.7
	>70	3	13.9	0.8	13.0	14.8
		34	13.3	2.3	10.6	15.7
Total/Total		64	13.1	3.2	9.9	16.2

Annova. Corelațiile între variabile au fost stabilite prin regresie lineară. Prezentarea legăturii între doi parametri s-a apreciat prin coeficientul de corelație Pearson (r). Am ales un prag de semnificație (p) de 0.05 (5%), nivelul de încredere de 95% arătând că decizia este justă.

Rezultate

Activitatea ADA a fost determinată la 64 voluntari sănătoși, grupați pe grupe de vârstă și sex (tabel 1), în vederea stabilirii intervalului de referință al enzimei. Valoarea ADA determinată la control este 13.1 ± 3.2 U/L ser, fără deviații semnificative în raport cu grupele de vârstă sau sexul subiecților adulți examinați.

La control nu s-au înregistrat diferențe ale activității ADA-1 în funcție de vârstă sau sex (tabel 2). Intervalul de referință stabilit este 3.2 ± 1.2 U/L ser.

Nivelul ADA-2 măsurat în serul controalelor este invariabil în funcție de sex și vârstă la adulții examinați. Intervalul optim de referință este 10.1 ± 2.8 U/L ser (tabel 3).

În urma evaluării activității ADA la pacienții cu urticarie, s-au obținut următoarele valori: 12.6 ± 4.5 U/L ser pentru pacienții cu urticarie acută spontană și 22.7 ± 4.6 U/L ser pentru pacienții cu urticarie cronică spontană. Nivelul ADA a fost semnificativ crescut la pacienții cu urticarie cronică spontană versus control (p = 0.009). ADA-1 a prezentat variații semnificative statistic între pacienții cu urticarie acută

Statistical analysis. The comparison of experimental results between batches for quantitative variables was performed using the t or Annova tests. Correlations between variables were established by linear regression. The presentation of the relationship between two parameters was assessed by the Pearson correlation coefficient (r). We chose a significance threshold (p) of 0.05 (5%), the 95% confidence level indicating that the decision was right.

Results

ADA activity was determined in 64 healthy volunteers, grouped by age and gender (Table 1), to determine the enzyme reference range. The ADA value determined at controls is 13.1 ± 3.2 U/L serum, with no significant deviations in relation to the age groups or the sex of the examined subjects.

At controls there were no differences in ADA-1 activity based on age or sex (Table 2). The set reference range is 3.2 ± 1.2 U/L serum.

The ADA-2 level measured in the control serum is invariably based on sex and age in the examined adults. The optimal reference range is 10.1 ± 2.8 U/L serum (Table 3).

Following evaluation of ADA activity in patients with urticaria, the following values were obtained: 12.6 ± 4.5 U/L serum for patients with acute spontaneous urticaria and 22.7 ± 4.6 U/L serum for patients with chronic spontaneous urticaria. The ADA level was significantly higher

Tabel 2. Distribuția activității ADA-1 (U/L ser) în funcție de vârstă și sex la control
 Table 2. Distribution of ADA-1 activity (U/L serum) depending on age and sex at controls

Sex/Sex	Vârsta/Age	n/n	Media/Average	Deviația standard Standard deviation	Minimum Minimum	Maximum Maximum
Bărbați/Men	20-29	6	2.9	0.5	2.3	3.4
	30-39	4	3.4	0.3	3.2	3.7
	40-49	9	3.2	1.0	2.1	4.1
	50-59	5	3.3	0.2	3.1	3.6
	60-69	2	2.8	0.1	2.8	2.9
	>70	4	2.9	0.5	2.4	3.5
		30	3.1	1.0	2.1	4.1
Femei/Women	20-29	5	2.9	0.3	2.6	3.2
	30-39	4	3.6	0.6	3.1	4.2
	40-49	10	3.3	0.4	2.9	3.8
	50-59	8	3.3	1.0	2.3	4.0
	60-69	4	3.1	0.6	2.5	3.8
	>70	3	2.9	0.2	2.7	3.1
		34	3.3	1.1	2.2	4.2
Total/Total		64	3.2	1.2	2.1	4.2

Tabel 3. Distribuția activității ADA-2 (U/L ser) în funcție de vârstă și sex la control
 Table 3. Distribution of ADA-2 activity (U/L serum) depending on age and sex at controls

Sex/Sex	Vârsta/Age	n/n	Media/Average	Deviația standard Standard deviation	Minimum Minimum	Maximum Maximum
Bărbați/Men	20-29	6	9.0	1.2	7.6	10.0
	30-39	4	8.0	1.3	7.3	9.3
	40-49	9	9.8	0.8	9.3	11.0
	50-59	5	11.0	1.6	8.6	12.8
	60-69	2	10.9	1.1	9.8	11.6
	>70	4	10.4	1.2	9.2	11.4
		30	9.9	2.2	7.6	12.8
Femei/Women	20-29	5	9.2	1.0	8.2	10.0
	30-39	4	8.0	0.6	7.4	8.3
	40-49	10	8.2	1.3	7.0	9.3
	50-59	8	10.2	1.2	9.4	12.2
	60-69	4	11.6	1.2	10.4	12.6
	>70	3	11.0	0.7	10.3	11.7
		34	10.2	1.7	7.4	12.2
Total/Total		64	10.1	2.8	7.4	12.8

spontană și urticarie cronică spontană (5.3 ± 1.6 U/L versus 4.1 ± 1.8 U/L, $p = 0.043$). Nivelul ADA-2 a fost invariabil la pacienții cu urticarie cronică spontană. În schimb, ADA-2 a fost semnificativ crescută la pacienții cu urticarie cronică spontană versus control ($p = 0.018$). Raportul ADA totală/ADA-1 a prezentat variații semnificative la pacienții cu urticarie cronică spontană față de control ($p = 0.007$) și față de pacienții cu urticarie acută spontană ($p = 0.028$). Raportul ADA totală/ADA-2 nu a înregistrat oscilații semnificative statistic între loturile analizate (tabel 4).

Analiza corelațiilor între activitățile ADA totală, ADA-1, ADA-2 în fiecare grup investigat a

în pacienții cu urticarie cronică spontană versus controls ($p = 0.009$). ADA-1 showed statistically significant variations between patients with acute spontaneous urticaria and patients with chronic spontaneous urticaria (5.3 ± 1.6 U/L vs. 4.1 ± 1.8 U/L, $p = 0.043$). The ADA-2 level was invariable in patients with chronic spontaneous urticaria. In contrast, ADA-2 was significantly higher in patients with chronic spontaneous urticaria versus controls ($p = 0.018$). The Total ADA/ADA-1 ratio showed significant variations in patients with chronic spontaneous urticaria versus controls ($p = 0.007$) and versus patients with acute spontaneous urticaria ($p = 0.028$). The Total ADA/ADA-2 ratio had no

Tabel 4. Activitatea ADA (U/L ser) la pacienții cu urticarie acută spontană, cu urticarie cronică spontană și control
 Table 4. ADA activity (U/L serum) in patients with acute spontaneous urticaria, patients with chronic spontaneous urticaria and controls

ADA (U/L ser)/ADA (U/L serum)	Urticarie acută/Acute urticaria (82 cazuri)/(82 cases)	Urticarie cronică/Chronic urticaria (60cazuri)/(60 cases)	Control/Controls (64 cazuri)/(64 cases)
ADA totală/Total ADA	12.6 ± 4.5	22.7 ± 4.6*	13.1 ± 3.2
ADA-1/ADA-1	5.3±1..6 **	4.1 ± 1.8	4.7 ± 1.2
ADA-2/ADA-2	7.3 ± 3.9	18.6 ± 4.3 *	8.4 ± 2.9
ADAtotală/ADA-1/ Total ADA/ADA-1	2.38 ± 0.22	5.54 ± 0.57 */**	2.79 ± 0.31
ADAtotală/ADA-2/ Total ADA/ADA-2	1.73 ± 0.20	1.22 ± 0.14	1.56 ± 0.18

* p < 0.05 urticarie acută sau cronică versus control, ** p < 0.05 urticarie acută versus urticarie cronică.
 p < 0.05 acute or chronic urticaria versus controls, ** p < 0.05 acute urticaria versus chronic urticaria.

Tabel 5. Relații statistice între ADAtotală, ADA-1, ADA-2 în loturile studiate
 Table 5. Statistical relations between total ADA, ADA-1, ADA-2 in the studied batches

Variabile pereche/Pair variables	Urticarie acută/Acute urticaria		Urticarie cronică/ Chronic urticaria		Control/Controls	
	R	p	r	p	r	p
ADA totală/ADA-1/ Total ADA/ADA-1	0.870	0.005	0.103	0.637	0.011	1.00
ADA totală/ADA-2 Total ADA/ADA-2	0.068	0.977	0.09	0.798	-0.094	0.998
ADA-1/ADA-2	-0.620	0.006	-0.033	0.899	0.042	0.966

arătat o asociere pozitivă între ADA totală și ADA-1 ($r = 0.87$, $p < 0.05$) și o asociere negativă între ADA-1 și ADA-2 ($r = -0.62$, $p < 0.05$) numai la pacienții cu urticarie acută spontană (tabel 5).

Discuții

Pe baza determinărilor efectuate în cadrul studiului prezent, s-au notat variații interesante ale activităților ADA, astfel:

- ADA prezintă polimorfism genetic, în serul uman fiind detectate două forme moleculare, care se diferențiază prin comportamentul față de EHNA;

- ADA totală, ADA-1 și ADA-2 nu prezintă variații în funcție de sexul și vârsta persoanelor adulte investigate;

- la momentul preterapeutic, creșterile ADA totală și ADA-2 sunt specifice pentru urticaria cronică spontană, iar creșterea ADA-1 este specifică urticariei acută spontană;

- raportul între ADA totală și ADA-1 ar putea fi un factor de diferențiere între urticaria acută spontană și urticaria cronică spontană.

statisticamente semnificative oscilații între grupurile analizate (Tabel 4).

Analiza corelațiilor între ADA totală, ADA-1, ADA-2 în fiecare grup investigat a arătat o asociere pozitivă între ADA totală și ADA-1 ($r = 0.87$, $p < 0.05$) și o asociere negativă între ADA-1 și ADA-2 ($r = -0.62$, $p < 0.05$) numai la pacienții cu urticarie acută spontană (Tabel 5).

Discuții

Pe baza determinărilor efectuate în cadrul studiului prezent, s-au notat variații interesante ale activităților ADA, astfel:

- ADA prezintă polimorfism genetic, în serul uman fiind detectate două forme moleculare, care se diferențiază prin comportamentul față de EHNA;

- ADA totală, ADA-1 și ADA-2 nu prezintă variații în funcție de sexul și vârsta persoanelor adulte investigate;

- la momentul preterapeutic, creșterile ADA totală și ADA-2 sunt specifice pentru urticaria cronică spontană, iar creșterea ADA-1 este specifică urticariei acută spontană;

Pe baza acestor rezultate, autorii apreciază că prin reglarea nivelului și activității ADA, adeno-zina modulează răspunsul imun și inflamator în procesul urticarian. Nivelul adeno-zinei extracelulare este foarte scăzut în țesuturi, iar eliberarea sa din celule este accelerată în urticaria acută, ca răspuns la diferiți stimuli. Creșterea acută a adeno-zinei este necesară pentru limitarea inflamației excesive, însă nivelurile ridicate ale adeno-zinei devin toxice [6,9,20]. Adeno-zina modulează răspunsurile celulare prin intermediul receptorilor specifici exprimați pe celulele T, pe mastocite și macrofage, pe celulele endoteliale, pe neutrofile, pe celule dendritice. Blocarea semnalizării adeno-zinei endogene exacerbează activarea imunității și agravează disfuncția țesuturilor, ca urmare a stimulării acute dăunătoare [3,4,6,9,20]. Inducerea ADA în leziunile urticariene ar putea reprezenta un mecanism de eliminare a substanțelor toxice pentru a anula efectele nedorite asupra țesuturilor.

În plus, turnoverul adeno-zinei este extrem de rapid. Adeno-zina se formează atât în spațiul extracelular cât și intracelular. Hipoxia și ischemia tisulară stimulează 5-nucleotidază, supresează adeno-zinkinaza și accelerează sinteza intracelulară a adeno-zinei. După acumularea unor cantități crescute de adeno-zină în spațiul intracelular, adeno-zina este transferată în exteriorul celulelor cu ajutorul transportatorilor de nucleozide. În spațiul extracelular, crește sinteza adeno-zinei prin stimularea CD39(DNTP) și a CD73(5-nucleotidaza), enzime care realizează degradarea precursorilor nucleozidici eliberați din celule [2,6,18]. Biodisponibilitatea extracelulară a adeno-zinei este limitată de adeno-zindeaminază. În pielea umană, ADA a fost identificată în derm și în epiderm, având o activitate mai ridicată în stratul superficial. Se apreciază că ADA participă la funcția imună cutanată [18]. În leziuni de alopecia areata, activitatea ADA și stresul oxidativ sunt semnificativ crescute față de scalpul normal. Creșterea ADA în aceste leziuni s-ar putea datora infiltrării limfocitelor T, hiperproliferării și diferențierii celulare. În alopecia areata, ADA este, așadar, implicată în imunitatea mediată celular [19]. Alte rapoarte au subliniat creșterea ADA la pacienții cu psoriazis înainte de

spontaneous urticaria, and the increase in ADA-1 is specific to acute spontaneous urticaria;

- the ratio between total ADA and ADA-1 could be a differentiating factor between acute spontaneous urticaria and chronic spontaneous urticaria.

Based on these results, the authors conclude that by regulating the level and activity of ADA, adenosine modulates the immune and inflammatory response in the urticarial process. The level of extracellular adenosine is very low in tissues, and its release from cells is accelerated in acute urticaria in response to various stimuli. The acute increase of adenosine is required to limit excessive inflammation, but high levels of adenosine become toxic [6, 9, 20]. Adenosine modulates cellular responses via specific receptors expressed on T cells, mast cells and macrophages, on endothelial cells, on neutrophils, on dendritic cells. Blocking of endogenous adenosine signalling exacerbates immune activation and aggravates tissue dysfunction as a result of harmful acute stimulation [3,4,6,9,20]. The induction of ADA in urticarial lesions could be a mechanism for eliminating toxic substances to suppress unwanted effects on tissues.

In addition, adenosine turnover is extremely rapid. Adenosine is formed both in the extracellular and in the intracellular space. Tissue hypoxia and ischemia stimulate 5-nucleotidase, suppress adenosine kinase and accelerate intracellular synthesis of adenosine. After accumulation of increased amounts of adenosine in the intracellular space, adenosine is transferred outside the cells with the help of nucleoside transporters. In the extracellular space, adenosine synthesis increases by stimulation of CD39 (DNTP) and CD73 (5-nucleotidase), enzymes that degrade nucleoside precursors released from cells [2,6,18]. The extracellular bioavailability of adenosine is limited by adenosine deaminase. In the human skin, ADA has been identified in the dermis and epidermis, having a higher activity in the superficial layer. It is believed that ADA participates in the skin immune function [18]. In alopecia areata lesions, ADA activity and oxidative stress are significantly elevated compared to normal scalp. The increase in ADA in these lesions may be due to the infiltration of T

tratament și reducerea activității enzimatică după tratamentul cu PUVA și ciclosporină. Aceste rezultate arată că ADA este legată de activitatea bolii [20].

Concluzii

La pacienții cu urticarie spontană s-au înregistrat niveluri crescute ale ADA. Izoenzimele ADA detectate în serul pacienților se comportă diferit în funcție de tipul de urticarie investigat. Creșterile ADA totală și ADA-2 sunt specifice pentru urticaria cronică spontană, iar creșterea ADA-1 este specifică urticariei acute spontană. În final, autorii consideră că modularea terapeutică a adenozindeaminazelor ar putea influența rezoluția urticariei prin: reglarea secreției de histamină, atenuarea inflamației, reglarea răspunsului imun, eliminarea metabolitelor purinici și deoxipurinici acumulați în piele.

lymphocytes, hyperproliferation and cell differentiation. In alopecia areata, ADA is therefore involved in cell-mediated immunity [19]. Other reports have highlighted the increase in ADA in patients with psoriasis prior to treatment and the reduction in enzyme activity after treatment with PUVA and cyclosporin. These results show that ADA is related to disease activity [20].

Conclusions.

Elevated ADA levels have been reported in patients with spontaneous urticaria. The ADA isoenzymes detected in the patients' serum behave differently depending on the type of urticaria investigated. The increases in total ADA and ADA-2 are specific to chronic spontaneous urticaria, and the increase in ADA-1 is specific to acute spontaneous urticaria. Finally, the authors state that the therapeutic modulation of adenosine deaminases could influence the resolution of urticaria by: regulating histamine secretion, mitigating inflammation, regulating immune response, removing purine and deoxypurine metabolites accumulated in the skin.

Bibliografie/Bibliography

1. Dinu L. Aspecte etiopatogenice, clinice, paraclinice și terapeutice în urticarie. Teză de doctorat, 2014; 45-49.
2. Obata T, Kubota S, Yamanaka Y. Histamine increased interstitial adenosine concentration via activation of ecto-5-nucleotidase in rat hearts in vivo. *ASPET*, 2001;298(1):71-76.
3. Arin, R.M.; Vallejo, A.I.; Rueda, Y.; Fresnedo, O.; Ochoa, B. Expression of Adenosine A2B Receptor and Adenosine Deaminase in Rabbit Gastric Mucosa ECL Cells. *Molecules* **2017**, *22*, 625.
4. Ciruela F, Sotelo E. Adenosine receptors *Molecules*, 2017;22,1220:1-4.
5. Whitmore K, Gaspar H. Adenosine deaminase deficiency-more than just an immunodeficiency. *Front. Immunol.* 2016;7:314.
6. Eltzschig HK, Faigle M, Knapp S, et al. Endothelial catabolism of extracellular adenosine during hypoxia: the role of surface adenosine deaminase and CD26. *Blood*. 2006;108(5):1602-10.
7. Cristalli G, Costanzi S, Lambertucci C, et al. Adenosine deaminase: functional implications and different classes of inhibitors. *Medicinal Research Reviews*. 2001;21 (2): 105-128.
8. Daddona PE, Kelley WN. Human adenosine deaminase. Purification and subunit structure. *The Journal of Biological Chemistry*. 1997;252 (1): 110-115.
9. Ratech H, Kuritsky L, Thorbecke GJ, et al. Suppression of human lymphocyte DNA and protein synthesis in vitro by adenosine and eight modified adenine nucleosides in the presence or in the absence of adenosine deaminase inhibitors, 2'-deoxycoformycin (DCF) and erythro-9-(2-hydroxy-3-nonyl) adenine (EHNA). *Cell Immunol* 1982;68: 244-5127.
10. Gao Z, Zhao G, Zhang Z et al. Serum adenosine deaminase activity is increased in systemic lupus erythematosus patients and correlated with disease activity. *Immunologic Research*, 2018:1-6.

11. Saghiri R, Ghashghai N, Movaseghi S, Poursharifi P, Jalilfar S, Bidhendi MA, et al. Serum adenosine deaminase activity in patients with systemic lupus erythematosus: a study based on ADA1 and ADA2 isoenzymes pattern. *Rheumatol Int.* 2012;32(6):166.
12. Hitoglou S, Hatzistilianou M, Gougoustamou D, Athanassiadou F, Kotsis A, Catriu D. Adenosine deaminase activity and its isoenzyme pattern in patients with juvenile rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol.* 2001;20(6):411–6.
13. Ali M, Sari R, E Bakan (2002) Serum adenosine deaminase and cytidine deaminase activities in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Chem Lab Med* 40:493–495.
14. Laxminarayana D, O'Rourke KS, Maas S, Olorenshaw I (2007) Altered editing in RNA editing adenosine deaminase ADAR2 gene transcripts of systemic lupus erythematosus T lymphocytes. *Immunology* 121:359–369.
15. Hitoglou S, Hatzistilianou M, Gougoustamou D, Athanassiadou F, Kotsis A, Catriu D (2001) Adenosine deaminase activity and its isoenzyme pattern in patients with juvenile rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol* 20:411–416.
16. Stancikova M, Lukac J, Istok R, Cristalli G, Rovensky J (1998) Serum adenosine deaminase activity and its isoenzymes pattern in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol* 15:583–58.
17. Heinz F (1984) *Methods of enzymatic analysis.* Verlag Chemie:Weinheim, New York, pp 315–323.
18. Kim YP, Khang JB, Chon JY et al. Adenosine deaminase in human skin. *J Dermatol.*, 1981;8(6):493-497.
19. Ozturk P, Arican O, Kurutas EB et al. Oxidative stress biomarker and adenosine deaminase over the alopecia area of the patients with alopecia areata. *Balkan Med.J.*,2016;33(2):188-192.
20. M Festugato. Adenosine: an endogenous mediator in the pathogenesis of psoriasis. *An. Bras. Dermatol.*, 2015;90(6):862-867.

Conflict de interese
NEDECLARATE

Conflict of interest
NONE DECLARED

Adresa de corespondență: Gabriela Coman
email: noime85yahoo.com

Correspondance address: Gabriela Coman
email: noime85yahoo.com