

Mokslinės tezės

Skirtingų kraujo eozinofilų potipių poveikis bronchų lygiųjų raumenų ląstelių migracijai ir su tarpląstelinio užpildu susijusiai proliferacijai sergant astma

BLOOD EOSINOPHIL SUBTYPES AFFECT MIGRATION OF AIRWAY SMOOTH MUSCLE CELLS AND THEIR ECM-RELATED PROLIFERATION IN ASTHMA

AIRIDAS RIMKŪNAS¹, ANDRIUS JANUŠKEVIČIUS¹, EGLĖ VASYLĖ¹, JOLITA PALAČIONYTĖ², IEVA JANULAITYTĖ³, GRETA ŠEŠKAITĖ¹, KĘSTUTIS MALAKAUSKAS^{1,2}

¹LSMU MA Pulmonologijos klinikos Pulmonologijos laboratorija, ²LSMU MA Pulmonologijos klinika, ³Kauno klinikos Laboratorinės medicinos klinika

Įvadas. Manoma, kad skirtingų kraujo eozinofilų potipių – uždegiminių eozinofilų (EOS_{užd}) ir plaučių rezidentinių eozinofilų (EOS_{rez}) – biologinės savybės skiriasi, todėl jie gali nevienodai veikti bronchų lygiųjų raumenų ląsteles (BLRL), taip prisidedant prie kvėpavimo takų remodeliacijos vystymosi, sergant astma. **Tikslas.** Įvertinti eozinofilų potipių poveikį BLRL migracijai, su tarpląstelinio užpildu susijusiai proliferacijai ir COL1A1, FN, TGF-β₁, kontraktinio aparato baltymų genų raiškai, sergant astma. **Metodai.** Tyrimo metu buvo ištirta 17 įkvėpamųjų gliukokortikoidų nevartojusių nesunkia alergine astma (AA) ir 15 sunkia eozinofiline astma (SEA) sergančių pacientų bei 12 sveikų asmenų (SA) kontrolės grupėje. Kraujo eozinofilai išskirti naudojant centrifugavimą aukšto tankio Ficoll gradientu ir magnetinę separaciją, tuomet buvo skirstomi potipiais, naudojant magnetinę žymę konjuguotus antikūnus prieš CD62L. Eozinofilų potipių poveikis BLRL migracijai buvo vertintas žaizdos gijimo metodu po 72 val. inkubacijos. Genų raiškos vertinimas buvo atliktas naudojant atvirkštinės transkriptazės kiekybinę polimerazės grandininės reakcijos analizę. BLRL proliferacija įvertinta praėjus 48 val. nuo naujų BLRL užsėjimo ant tarpląstelinio užpildo komponentų, naudojant Alamaro mėlio reagentą. **Rezultatai.** Visų tiriamųjų grupių eozinofilų potipiai skatino BLRL migraciją, lyginant su BLRL, inkubuotomis be eozinofilų ($p < 0,05$). Po inkubacijos su AA ir SEA pacientų eozinofilų potipiais, BLRL migracija, su tarpląstelinio užpildu susijusi proliferacija ir COL1A1, FN, TGF-β₁, sm-MLCK, sm-MHC, SM22, α-sm-aktino genų raiška BLRL ląstelėse buvo reikšmingai didesnė, lyginant su SA ($p < 0,05$). Be to, abiejų astmos grupių EOS_{rez} poveikis BLRL migracijai, su tarpląstelinio užpildu susijusiai proliferacijai ir FN, sm-MHC ir SM22 genų raiškai BLRL buvo reikšmingai didesnis nei EOS_{užd}, o sergančiųjų SEA pacientų kraujo eozinofilų poveikis buvo didesnis nei atitinkamų eozinofilų potipių AA grupėje ($p < 0,05$). **Išvados.** Kraujo eozinofilų potipiai, ypač EOS_{rez}, skatina BLRL migraciją, su tarpląstelinio užpildu susijusią proliferaciją bei didina FN, sm-MHC ir SM22 genų raišką sergant AA, o didžiausias poveikis nustatytas SEA grupėje.

CD4+CD25+FoxP3+ T reguliaciniai limfocitai ir su jais susiję citokinai sergantiesiems atopinėmis ligomis

CD4+CD25+FoxP3+ T REGULATORY LYMPHOCYTES AND THEIR ASSOCIATED CYTOKINES IN ATOPIC DISEASES

DAINA BASTYTĖ^{1,2}, LAURA TAMAŠAUSKIENĖ^{1,2}, BRIGITA ŠITKAUSKIENĖ¹

¹LSMU MA Imunologijos ir alergologijos klinika, ²LSMU MA Imunologijos ir alergologijos klinikos Imunologijos laboratorija

Įvadas. Atopinės ligos (ypač atopinis dermatitas ir alerginė astma), susijusios su išreikštu imuniniu atsaku į išorinius aplinkos alergenų, yra paplitusios pasaulyje ir sergamumas jomis sparčiai didėja. Pastaraisiais metais nustatyta, kad T reguliaciniai limfocitai (T_{reg}) yra vienos svarbiausių ląstelių, kurios slopina imuninį uždegimą atopijos metu, todėl imuninių mechanizmų, susijusių su T_{reg} limfocitais, ištyrimas gali būti naudingas, vertinant atopijos raišką ir ieškant geresnių atopinių ligų kontrolės

Moksliniai darbai ir apžvalgos

strategijų. **Tikslas.** Įvertinti CD4+CD25+FoxP3+ T_{reg} limfocitų ir su jais susijusių citokinų kiekį, sergant atopinėmis ligomis ir palyginti šiuos rodiklius su sveikų asmenų tyrimo duomenimis. **Metodai.** Ištirti 39 asmenų, sergančių atopinėmis ligomis (19 – vidutinio sunkumo arba lengvos eigos alergine astma, 20 – vidutinio sunkumo arba lengvos eigos atopiniu dermatitu) ir 15 sveikų asmenų periferinio kraujo mėginiai. CD4+CD25+FoxP3+ T_{reg} limfocitų vertinimui iš periferinio kraujo išskirtos mononuklearinės ląstelės buvo nudažytos specifiniais monokloniniais antikūnais ir analizuotos tėkmės citometrijos metodu. Citokinų interleukino (IL) 5, IL-10, transformuojančio augimo faktoriaus β_1 (TGF- β_1), bendrojo imunoglobulino E (IgE) kiekis serume nustatytas standartiniu imunofermenitinės analizės (angl. *enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA) metodu. **Rezultatai.** Sergančiųjų atopiniu dermatitu ir alergine astma periferinio kraujo mėginiuose nustatytas reikšmingai mažesnis CD4+CD25+FoxP3+ T_{reg} limfocitų kiekis nei sveikiems tiriamiesiems ($0,44 \pm 0,04$; $0,43 \pm 0,03$ ir $0,65 \pm 0,05$ proc., $p < 0,05$), vertinant citokinus – didesnis IL-5 ($122,3 \pm 13,5$; $117,7 \pm 0,05$ ir $74,9 \pm 9,7$ pg/ml) bei mažesni IL-10 ($18,6 \pm 0,8$; $20,5 \pm 0,9$ ir $27,9 \pm 3,7$ pg/ml) ir TGF- β_1 ($9,2 \pm 0,8$; $9,3 \pm 0,7$ ir $12,6 \pm 0,7$ ng/ml, atitinkamai, $p < 0,05$) kiekis serume. Sergančiųjų atopiniu dermatitu ir alergine astma grupėse bendrojo IgE ir eozinofilų kiekiai kraujyje buvo reikšmingai didesni, lyginant su sveikais tiriamaisiais ($577,7 \pm 356,6$; $938,4 \pm 338,5$ ir $12,9 \pm 5,7$ IU/ml, $p < 0,05$; $0,44 \pm 0,16$; $0,42 \pm 0,05$ ir $0,03 \pm 0,01 \times 10^9/l$, $p < 0,01$). Nustatyta, kad atopinių ligų grupėje CD4+CD25+FoxP3+ T_{reg} limfocitai buvo susiję su bendruoju IgE ($r = 0,36$, $p < 0,01$) ir kraujo eozinofilų kiekiu ($r = 0,50$, $p < 0,01$), rastos reikšmingos sąsajos tarp eozinofilų kiekio ir TGF- β_1 ($r = -0,38$, $p < 0,01$), IL-10 ($r = 0,33$, $p < 0,05$). Išvados. Sergant alergine astma ir atopiniu dermatitu, sumažėjęs CD4+CD25+FoxP3+ T_{reg} limfocitų, IL-10 ir TGF- β_1 kiekis, bei jų ryšys su atopijos žymenimis, leidžia daryti prielaidą apie šių ląstelių ir jų išskiriamų citokinų reikšmę atopinių ligų patogenezėje.

Įsijautrinimo namų dulkių erkių alergenams profiliai, sergant alerginėmis kvėpavimo takų ligomis. Pilotinis tyrimas

SENSITIZATION PROFILES TO HOUSE DUST MITE ALLERGENS IN ALLERGIC AIRWAY DISEASES. A PILOT STUDY

SANDRA SAKALAUŠKAITĖ¹, EDITA GASIŪNIENĖ^{1,2}, BRIGITA ŠITKAUSKIENĖ²

¹LSMU MA Imunologijos ir alergologijos klinikos Imunologijos laboratorija,

²LSMU MA Imunologijos ir alergologijos klinika

Įvadas. Namų dulkių erkės (NDE) yra vienas labiausiai paplitusių įkvepiamųjų alergenų šaltinių, turinčių reikšmę alerginėms kvėpavimo takų ligoms (alerginei astmai (AA) ir alerginiam rinitui (AR). Nors dažniausiai įsijautrinimą lemia NDE rūšys: *Dermatophagoides pteronyssinus* ir *D. farinae*, kurių pagrindiniai komponentai: Der p 1, Der p 2 ir Der f 1, Der f 2, tačiau naujausi tyrimai rodo, kad AA metu reikšmingas ir Der p 23 komponentas. **Tikslas.** Įvertinti įsijautrinimo NDE alergenams profilius, sergant alerginėmis kvėpavimo takų ligomis. **Metodai.** Tyrimui buvo atrinkta 40 suaugusiųjų (17 vyrų ir 23 moterys), nuo 20 iki 56 metų amžiaus, kuriems pasireiškė AR ir (arba) AA simptomai. Jiems buvo atliktas specifinių imunoglobulinų E (sIgE) nustatymas kraujo serume *in vitro* diagnostikos sistema „Alex2“ (Macro Array Diagnostics GmbH, Austrija). **Rezultatai.** 65 proc. tirtų pacientų, nepriklausomai nuo jų ligos pobūdžio, buvo įsijautrinę *D. pteronyssinus* ir 62,5 proc. *D. farinae* išskiriamiems alergenams. Didžiausias įsijautrinimo dažnis nustatytas pagrindiniams komponentams: Der f 2 (72 proc.), Der p 2 (68 proc.), Der p 1 (52 proc.), Der f 1 (48 proc.). 52 proc. tiriamųjų buvo įsijautrinę Der p 23 komponentui, dažniau sergant AA+AR nei AR. 84 proc. pacientų, įsijautrinusių NDE išskiriamiems alergenams, buvo nustatytas įsijautrinimas maisto erkės *Lepidoglyphus destructor* alergenui Lep d 2. sIgE vertės, nustatytos prieš šį alergeną, buvo reikšmingai susijusios su sIgE rodmenimis, nustatytais prieš Der f 2 ir Der p 2 komponentus ($r = 0,950$; $0,906$; $p < 0,001$). **Išvados.** Tyrimo rezultatai rodo, kad daugiau nei 60 proc. sergančiųjų alerginėmis kvėpavimo takų ligomis yra įsijautrinę NDE išskiriamiems alergenams (dažniausiai Der f 2 ir Der p 2). Didžioji dalis šių pacientų yra įsijautrinę ir maisto erkės *Lepidoglyphus destructor* alergenui Lep d 2. Tai leidžia daryti prielaidą, kad, vertinant įsijautrinimą NDE alergenams, tikslinga rinktis platesnio šio alergeno komponentų spektro paletes.

Nepageidaujamos reakcijos į vakcinas nuo COVID-19, sergant alerginėmis ligomis

SIDE EFFECTS OF THE COVID-19 VACCINES IN PATIENTS WITH ALLERGIC DISEASES

EGIDIJA KUKARSKYTĖ, IEVA BAJORIŪNIENĖ, BRIGITA ŠITKAUSKIENĖ
LSMU MA Imunologijos ir alergologijos klinika

Įvadas. Matricinės ribonukleino rūgšties (mRNR) vakcinų nuo koronaviruso ligos 2019 (angl. *coronavirus disease 2019*, COVID-19) klinikiniai tyrimai įrodė veiksmingumą, kuriant specifinę imuninės sistemos apsaugą. Rizikos patirti nepageidaujamas reakcijas (NR) į vakciną valdymas padėtų išvengti pavojingos alergijos apraiškų bei įrodytų, kad naujų mRNR vakcinų naudojimas yra saugus. **Tikslas.** Nustatyti NR į mRNR vakciną dažnį ir pobūdį, įsijautrinimą vakcinai sergančiųjų alerginėmis ligomis grupėje. **Metodai.** Retrospektyviai analizuoti 166 pacientų duomenys, kurie dėl NR į mRNR vakciną konsultuoti Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikų Imunologijos ir alergologijos klinikos ambulatorijoje nuo 2021 m. kovo mėn. 3 d. iki 2022 m. gegužės mėn. 5 d. 118 asmenų atlikti provokuojamieji odos mėginiai (POM) su mRNR vakcina: 98 (83,1 proc.) moterims ir 20 (16,9 proc.) vyrų nuo 21–87 metų, amžiaus mediana – 51,5 metų. Visiems tiriamiesiems POM atlikti su „Comirnaty“ („BioNTech“ / „Pfizer“) 30 µg, odos dūrio 1:1 ir įodiniai 1:10 mėginiai, vertintos greitojo (po 20 min.) ir lėtojo (po 24 val.) tipo reakcijos. **Rezultatai.** Remiantis anamnezės duomenimis, išskirtos šios tiriamųjų grupės: patyrę NR į medikamentus – 51 (43,2 proc.); patyrę NR į skiepus – 51 (43,2 proc.), tarp jų po pirmosios mRNR vakcinų dozės – 31 (26,3 proc.); sergantieji kitomis alerginėmis ligomis – 16 (13,6 proc.). Patyrusieji NR į mRNR vakciną, suskirstyti į dvi grupes: patyrusieji vietines – 16 (51,6 proc.) ir sisteminės – 15 (48,4 proc.) reakcijas. Teigiami POM su mRNR vakcina nustatyti 16 (13,6 proc.) asmenų: greitojo tipo – 9 (56,3 proc.) ir lėtojo tipo – 7 (43,8 proc.). Visose tiriamųjų grupėse reikšmingo skirtumo tarp nustatytų teigiamų POM nebuvo. **Išvados.** Teigiami POM su mRNR vakcina nuo COVID-19 vienodai dažnai nustatyti visose sergančiųjų alerginėmis ligomis grupėse ir nepriklausė nuo kitų veiksnių, pavyzdžiui, buvusios sisteminės NR po pirmos mRNR vakcinų dozės.

Biologiškai aktyvios medžiagos kaip potencialūs biologiniai žymenys 2 tipo kvėpavimo takų uždegimui atpažinti

BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES AS POTENTIAL BIOMARKERS FOR THE RECOGNITION OF TYPE 2 AIRWAY INFLAMMATION

JOLITA PALAČIONYTĖ¹, AIRIDAS RIMKŪNAS², EGLĖ VASYLĖ², ANDRIUS JANUŠKEVIČIUS²,
ASTRA VITKAUSKIENĖ³, KĘSTUTIS MALAKAUSKAS^{1,2}

¹LSMU MA Pulmonologijos klinika, ²LSMU MA Pulmonologijos klinika, Pulmonologijos laboratorija,

³LSMU MA Laboratorinės medicinos klinika

Įvadas. Astma yra heterogeninė liga, todėl svarbu suprasti jos patogenezę, nustatyti fenotipą ir parinkti tinkamą gydymą. Sergantiems astma dažniausiai nustatomas 2 tipo (T2) kvėpavimo takų uždegimas, kurį atpažinti padeda biologiniai žymenys. Tirta daug biologinių žymenų, tačiau tik keletas iš jų taikomi klinikinėje praktikoje. **Tikslas.** Iširti kraujyje cirkuliuojančias biologiškai aktyvias medžiagas (tirozin-proteinkinazę Met (MET), tirpaus interleukino 5 receptoriaus alfa subvienetą (sIL-5Ra), pentaksiną 3 (PTX3), tioredoksiną 1 (TRX1), I C telopeptido I tipo kolageną (ICTP), matriksinio metaloproteinazę-9 (MMP-9) kaip biologinius žymenis T2 kvėpavimo takų uždegimui atpažinti. **Metodai.** Į tyrimą įtraukta 20 asmenų, sergančių nesunkia alergine astma (AA) ir 16 sveikų asmenų (kontrolinė grupė). Visiems tiriamiesiems paimti veninio kraujo mėginiai. AA sergantiems pacientams papildomai atliktas bronchų provokacinis mėginys alergenu (lot. *Dermatophagoides pteronyssinus*), o kraujo mėginiai pakartotinai paimti praėjus 24 val. po provokacinio mėginio. Tirtų biologiškai aktyvių medžiagų koncentracija kraujyje matuota naudojant imunofermentinę analizę (angl. *enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA) ir Luminex technologiją (Luminex® 100/200™ System). **Rezultatai.** AA grupėje eozinofilų skaičius ir TRX1 kiekis buvo

Moksliniai darbai ir apžvalgos

reikšmingai didesnis, lyginant su kontroline grupe, o po bronchų provokacinio mėginio dar padidėjo ($p < 0,05$). sIL-5Ra ir MMP-9 kiekis AA grupėje taip pat buvo reikšmingai didesnis, lyginant su kontroline grupe ($p < 0,05$), tačiau bronchų provokacinis mėginys reikšmingos įtakos neturėjo ($p > 0,05$). O PTX3 ir ICTP kiekis AA grupėje buvo reikšmingai mažesnis, lyginant su kontroline grupe ($p < 0,05$), o po bronchų provokacinio mėginio nepakito ($p > 0,05$). ICTP ir MMP-9 kiekis AA grupėje reikšmingai koreliavo su eozinofilų skaičiumi (atitinkamai $r = -0,57$; $0,46$, $p < 0,05$). **Išvados.** ICTP ir MMP-9 potencialūs 2 tipo kvėpavimo takų uždegimo biologiniai žymenys.

1 lentelė. Eozinofilų skaičius ir biologiškai aktyvių medžiagų kiekis

	AA		Sveiki asmenys (kontrolinė grupė)
	V1	V2	
Eozinofilų skaičius kraujyje ($\times 10^9/l$)	$0,34 \pm 0,05^{*#}$	$0,46 \pm 0,05^{\#}$	$0,10 \pm 0,01$
sIL-5Ra (ng/ml)	$71,0 \pm 13,4^{\#}$	$55 \pm 15,9$	$26,4 \pm 7,4$
PTX3 (pg/ml)	$562,7 \pm 88,2^{\#}$	$492,5 \pm 106,6$	$1498,0 \pm 273,5$
TRX1 (ng/ml)	$130,6 \pm 15,3^{*#}$	$136,1 \pm 19,5$	$107,7 \pm 13,1^{\xi}$
ICTP (pg/ml)	$518,6 \pm 18,8^{\# \xi}$	$476,3 \pm 35,9$	$614,9 \pm 38$
MMP-9 (pg/ml)	$338,9 \pm 64,6^{\#}$	$262,8 \pm 67,4^{\xi}$	$255,2 \pm 59,0^{\xi}$

AA – alerginė astma; ICTP – I C telopeptido I tipo kolagenas; MMP-9 – matriks metaloproteinazė-9; PTX3 – pentaksinas-3; sIL-5Ra – tirpaus interleukino 5 receptoriaus alfa subvienetas; TRX1 – tioredoksinas-1; V1 – pirmas vizitas (prieš atliekant bronchų provokacinį mėginį); V2 – antras vizitas (24 val. po bronchų provokacinio mėginio).

* $p < 0,05$, lyginant su AA grupės antru vizitu, $^{\#}p < 0,05$, lyginant su kontroline grupe, $^{\xi}p < 0,05$ koreliacija su eozinofilų skaičiumi.