

Aplinkos veiksnių įtaka astmai bei kitoms alerginėms ligoms pasireikšti

THE IMPACT OF ENVIRONMENTAL FACTORS IN DEVELOPMENT OF ASTHMA AND OTHER ALLERGIC DISEASES

LAIMUTĖ VAIDELIENĖ¹, LUKAS VAIDELYS²

¹LSMU MA Vaikų ligų klinika, ²LSMU MA Medicinos fakultetas

Santrauka. Alerginės ligos – tai vienos labiausiai plintančių vaikų ligų Vakarų šalyse. Visiems gerai žinomi alergiją skatinamieji rizikos veiksniai (įvairūs alergenai, ksenobiotikai) bei veiksniai (mikrobai, dieta), kurie apsaugo nuo alergijos. Aplinkos tarša ir rūkymas tai pat turi įtakos minėtų veiksnių poveikiams ir kartu jie lemia genų ekspresijos pokyčius mūsų organizme. Aplinkos ir genų sąveiką nagrinėja epigenetikos mokslas. Remiantis naujausiais genomo bei epigenomo tyrimais, straipsnyje apžvelgiami svarbiausi duomenys apie epigenetinių modifikacijų įtaką alerginiam uždegimui ir astmos pasireiškimui. Siekiama įrodyti, kokią didžiulę įtaką epigenetiniai pokyčiai gali turėti klinikiniams alergijos pasireiškimams ir kokia tai galėtų būti gera ateities diagnostikos priemonė. Pateikiami įrodymai dėl netolimos ateities epigenetikos analizės galimybių, vertinant imunoterapijos sėkmę bei astmos gydymo veiksmingumą. Naujos technologijos taip pat atveria galimybes inovatyviems gydymo metodams, pvz., epigenetiniam redagavimui.

Reikšminiai žodžiai: astmos epigenetika, astmos genetika, alergijos patogenezė, aplinkos įtaka genų reguliacijai, DNR metilimas, histonų modifikacijos.

Summary. Allergic diseases – some of the most rapidly spreading pediatric illnesses in the western world. Allergy-inducing risk factors (various allergens, xenobiotics) and factors responsible for protection against allergies (microbes, diet) are well-known. Pollution and smoking also influence the effect said factors have and when all are combined, they determine gene expression alterations in our body. Epigenetics explains the interaction between genes and the environment. In this article, we review the most prominent facts regarding the influence epigenetic modifications have in the development of allergic inflammation and asthma based on the most recent studies in genome and epigenome research. We strive to reveal the significance epigenetic alterations may have on the clinical manifestation of allergies and to show their potential for diagnostics in the future. We provide evidence for how the analysis of epigenetics may be of service in the evaluation of the success of immunotherapy and the effectiveness of asthma treatment in the near future. New technologies also allow for innovation in the methods of treatment, such as epigenetic editing.

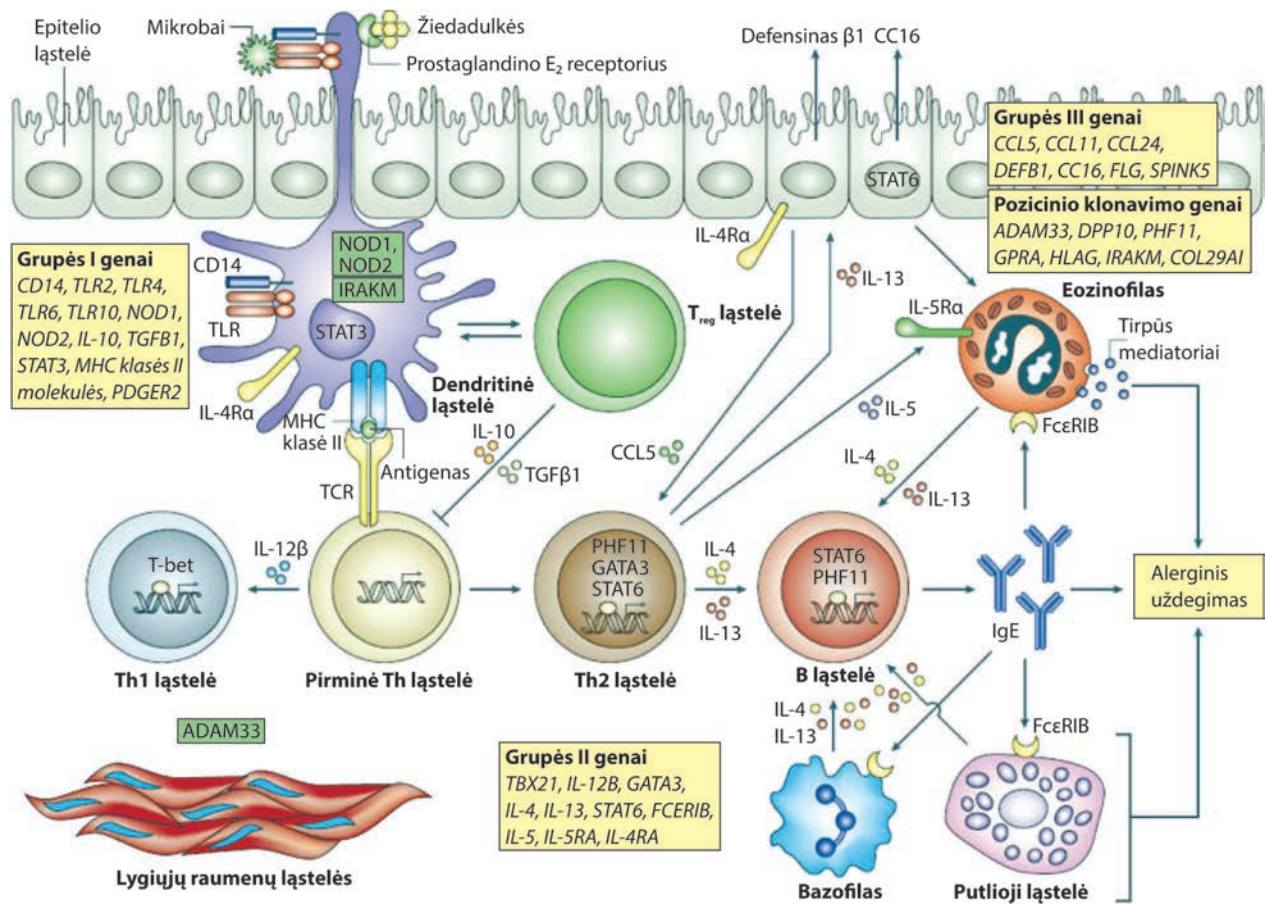
Keywords: epigenetics of asthma, asthma genetics, allergy pathogenesis, influence of environment on gene regulation, DNR methylation, histone modifications.

KAS SVARBIAU: PAVELDĖJIMAS AR APLINKA?

Alerginės ligos apima platų klinikinių būklių spektrą. Vaikams dauguma jų nulemtos imunoglobulino E (IgE) sąlygotų mechanizmų ir vadinamos atopinėmis ligomis. Palaipsnis jų pasireiškimas kūdikystėje bei vaikystėje vadinamas alergijos maršu, kuris prasideda odos barjero bei žarnyno gleivinės pažeidimais: atopiniu dermatitu ir maisto alergija, o vėliau pažeidžiami ir kiti barjerai, tokie kaip kvėpavimo takų epitelis, akių junginės. Tai pasireiškia astma, alerginiu rinitu, alerginiu konjungtyvitu. Kadangi pokyčiai sisteminiai, dažnai tam pačiam pacientui atsiranda kelių sistemų pažeidimų.

Daugumą alerginių ligų vaikystėje lemia IgE sąlygoti uždegiminiai mechanizmai. IgE nulemta maisto alergija Vakarų šalyse pasireiškia 3–5 proc. vaikų. Dažniausiai nustatoma alergija kiaušiniams ir karvės pienui [1]. Tačiau dermatitas arba astma, ypač suaugu-

siųjų amžiuje, gali būti nulemti ir ne IgE mechanizmu. Taigi, panašūs klinikiniai simptomai gali būti sąlygoti skirtingų uždegiminių mechanizmų, nors juose dažnai dalyvauja tie patys citokinai ir aktyvuojamos tos pačios putliosios ląstelės [2]. Daugybėje naujų tyrimų, analizuojančių epigenetines modifikacijas astmos metu, nenurodomas astmos fenotipas, todėl į tai reikia atsižvelgti vertinant tyrimų rezultatus. Vis dėlto, labiausiai ištyrinėtas yra atopinis sindromas, pasireiškiantis lėtiniu kvėpavimo takų uždegimu, atsiradusiu dėl aplinkos veiksnių ir organizmo sąveikos (1 pav.). Tokiame alerginiame uždegime dalyvauja įgimto imuniteto ląstelės, pristatančios antigeną (alergeną); T₀ limfocitai, turintys polinkį diferencijuotis Th2 linkme; Th2 limfocitai, pasižymintys vadinamųjų antrojo tipo (2 tipo) citokinų gamyba (interleukino (IL)-4, IL-5, IL-13, IL-19). Th2 poveikyje B limfocitai skatinami gaminti IgE klasės antikūnus, kurie jungiasi prie aukšto



1 pav. Alerginio kvėpavimo takų uždegimo patogenezė ir už astmą atsakingi genai (pagal Donata Vercelli, *Nature Reviews Immunology* 8, 169-182, 2008)

(FceRI) ir žemo afiniteto (FceRII, CD23) receptorių, ekspresuojamų ant putliųjų ląstelių ir bazofilų [3]. Alergeno prisijungimas prie šių receptorių sukelia ląstelių degranuliaciją, mediatorių išsiskyrimą ir I tipo (greitojo tipo) alerginių reakcijų sukeltus simptomus. Visi šie procesai yra genetiškai predisponuoti ir turi poligenetinį pobūdį, t. y. jie nulemti daugybės genų, esančių beveik visose žmogaus chromosomose (lentelė). Atskiros genų sritys reguliuoja T ląstelių aktyvumą, B ląstelių vystymąsi, citokinus ir citokinų receptorių, chemokinus, augimo veiksmus, kvėpavimo takų remodeliacijos procesuose dalyvaujančius baltymus, gijimo ir atsistatymo mechanizmus, kvėpavimo takų epitelio savybes bei metabolizmą [4].

Deja, net poligenetinis pagrindas negali paaiškinti pastaraisiais dešimtmečiais taip išaugusio alergijos ir astmos paplitimo. Juk populiacijos genetinis profilis taip greitai nekinta.

Daugelis tyrimų pagrindė nuomonę, kad aplinkos veiksniai ir vakarietiškas gyvenimo būdas turi didelę reikšmę Th2 tipo uždegimo sukėlimui ir jo palaikymui genetinė predispozicija turinčiam individui [5]. Remiantis šiomis išvadomis, alerginės ligos, taip pat ir astma, vadinamos genų ir aplinkos sąveikos sąlygotomis būklėmis [6]. Prieš kelis dešimtmečius tyrėjai visą

dėmesį skyrė astmos rizikos veiksniams, esančioms aplinkoje, nustatymui. Įrodyta, kad alergenų koncentracija, pasyvus rūkymas, ozonas ir automobilių išmetamųjų dujų dalelės (SO₂, NO₂) yra pagrindiniai veiksniai, galintys sukelti alerginę astmą [7]. Taip pat įrodyta, kad virusai yra svarbūs ligos paūmėjimams, galbūt, ir vaikų astmos pradžiai. Bakterinės superinfekcijos (ypač *Staphylococcus aureus* endotoksinais) neabejotinai prisideda prie atopinio dermatito paūmėjimų [8]. Ne visi polinkį turintys individai susergera astma arba tampa alergiški. Dabar tyrėjai stengiasi atsakyti į šį klausimą, atrasdami nemažai veiksnių, apsaugančių nuo alergijos. Higienos hipotezė skelbia, kad nepakankamas kontaktas su infekciniais mikroorganizmais, bakterijų metabolitais aplinkoje ir maiste bei dažnas antibiotikų vartojimas yra svarbūs alergijos rizikos veiksniai [9]. Pavyzdžiui visuomet minimas Alpių kaimelis, tradicinė ferma, kurios aplinka pastebimai apsaugo nuo alergijos. Tyrimai rodo, kad tiesioginis kontaktas su naminių gyvulių, nepasterizuoto pieno vartojimas, ilgas kūdikių maitinimas motinos pienu, intrauterinis kontaktas su mikrobu metabolitais ore ir aplinkoje bei tiesioginės mikrobu inhaliacijos ankstyvojoje vaikystėje patikimai apsaugo vaikus nuo alergijos netgi vėlesniame amžiuje [6, 10]. Šios hipotezės

Pulmonologija ir alergologija

Lentelė. Genai, atsakingi už alergijos ir astmos išsivystymą (pagal Donata Vercelli Nature Reviews Immunology 8, 169-182, 2008)

Genas	Chromosoma	Funkcija ir patogenetiniai mechanizmai	Dažniausi variantai	Patvirtinančių studijų skaičius
<i>GSTM1</i>	1p13.3	Aplinka ir oksidacinis stresas – detoksikacija	+/-neveikiantis	8
<i>FLG</i>	1q21.3	Epitelio berjero vientisumas	Arg510X,2282del4	7
<i>IL10</i>	1q31-q32	Imunoreguliacija	-1082A/G, -571C/A	13
<i>CTLA4</i>	2q33	T ląstelinio atsako inhibicija ir imunoreguliacija	-318C/T, 49A/G	9
<i>IL13</i>	5q31	Th2 efektorinės funkcijos	1112C/T, Arg130Gln	26
<i>IL4</i>	5q31.1	Th2 diferenciacija ir IgE indukcija	-589C/T, +33C/T	19
<i>CD14</i>	5q31.1	Igimtas imunitetas – mikrobų atpažinimas	-1721G/A, -260C/T	24
<i>SPINK5</i>	5q32	Epitelio serino proteazės inhibitorius	Glu420Lys	6
<i>ADRB2</i>	5q31-q32	Bronchų lygiųjų raumenų relaksacija	Arg16Gly, Gln27Glu	42
<i>HAVCR1</i>	5q33.2	T ląstelių atsako reguliacija – HAV receptoriai	5383_5397del	5
<i>LTC4S</i>	5q35	Cisteinil-leukotrienų biosintezė – uždegimas	-444A/C	6
<i>LTA</i>	6p21.3	Uždegimas	Ncol(intron 1)	11
<i>TNF</i>	6p21.3	Uždegimas	-308G/A, -857C/T	21
<i>HLA-DRB1</i>	6p21	Antigeno pristatymas	Multi-SNP aleliai	30
<i>HLA-DQB1</i>	6p21	Antigeno pristatymas	Multi-SNP aleliai	12
<i>HLA-DPB1</i>	6p21	Antigeno pristatymas	Multi-SNP aleliai	5
<i>GPRA</i>	7p14.3	Ląstelių augimo ir neuro mechanizmų reguliacija	Haplotipai	6
<i>NAT2</i>	8p22	Vaistų ir karcinogenų detoksikacija	Lėtas acetilinimas SNP (vieno nukleotido polimorfizmai)	6
<i>FCER1B</i>	11q13	Aukšto afiniteto Fc receptoriai IgE	Ile181Leu, Gly237Glu	21
<i>CC16</i>	11q12.3-q13.1	Epitelio priešuždegiminiai baltymai	38A/G	9
<i>GSTP1</i>	11q13	Aplinka ir oksidacinis stresas – detoksikacija	Lle105Val	12
<i>IL18</i>	11q22.2-q22.3	IFN γ ir TNF indukcija	-656T/G, -137G/C	9
<i>STAT6</i>	12q13	IL-4 ir IL-13 signalinimas	2964G/A, (GT) n exon 1	13
<i>NOS1</i>	12q24.2-q24.31	NO sintezė – ląstelių komunikacija	3391C/T, 5266C/T	9
<i>CMA1</i>	14q11.2	Putliųjų ląstelių chimotriptino serino proteazės	BstX1, -1903G/A	5
<i>IL4R</i>	16p12.1-p12.2	IL-4 ir IL-13 recetorių alfa-grandinė	Lle50Val, Glu551Arg	30
<i>CCL11</i>	17q21.1-q21.2	Epitelio eozinofilų chemoatraktantai	Ala23Thr, -1328G/A	6
<i>CCL5</i>	17q11.2-q12	Monocit, T-ląstelių, eozinofilų chemoatraktantai	-403A/G, -28C/G	10
<i>ACE</i>	17q23.3	Uždegimo mediatorių inaktyvacija	In/del	5
<i>TBXA2R</i>	19p13.3	Lygiųjų raumenų kontrakcijos, uždegimas	924T/C, 795T/C	8
<i>TGFB1</i>	19p13.1	Imunoreguliacija, ląstelių proliferacija	-509C/T	9
<i>ADAM33</i>	20p13	Ląstelių tarpusavio sąveika	Daugybiniai SNP (vieno nukleotido polimorfizmai)	14
<i>5GSTT1</i>	22q11.23	Aplinka ir oksidacinis stresas – detoksikacija	A/neveikiantis	5

pagrindu dabar kuriamos naujos apsaugos nuo alergijos ir astmos strategijos ir akcentuojama, kaip svarbu suprasti aplinkos veiksnių įtakos organizmo ląstelių ir molekulių reguliacijai mechanizmus. Šiuo atveju gali būti naudingas genetikos mokslas ir epigenetikos tyrimai [5]. Būtent epigenetika gali paaiškinti tuos palyginti greitus pokyčius ir ligų išsivystymą, veikiant organizmą aplinkos veiksniams. Epigenetiniai mechanizmai reguliuoja genų ir aplinkos sąveiką ir gali būti biožymeniu, diagnozuojant ir gydant alerginės ligas.

EPIGENETIKOS PAGRINDAI

Epigenetinės modifikacijos – tai biocheminiai chromatinio pokyčiai (DNR arba histonų), funkciškai vei-

kiantys genų ekspresiją, tačiau nekeičiantys nukleotidų sekos genome. Epigenetinės modifikacijos reguliuoja transkripcijos fermentų ekspresiją ir jų prieinamumą prie tam tikrų genomo sričių (2 pav.).

Specifinių genų sričių aktyvumas gali būti reguliuojamas bent trimis būdais.

1. **Histonų modifikacijos.** Gyvuose organizmuose DNR yra „supakuota“ chromosomose. Kad prasidėtų geno transkripcija (DNR nurašymas – pirmasis genų ekspresijos etapas), reikia atlaisvinti DNR grandinę. Tai vyksta nuolat modifikuojant histonus (rites, ant kurių susukta DNR chromosomoje). Histonų galai (uodegėlės) modifikuojami bent devyniomis biocheminėmis reakcijomis, iš

kurių geriausiai ištirtos ir alergijai svarbiausios – acetilinimas ir metilinimas. Modifikuojant histonus, reguliuojamas DNR atitinkamos geno srities aktyvumas. Žinoma, kad histonų acetilinimas skatina genų transkripciją ir transliaciją [12].

- Pačios DNR aktyvumas taip pat reguliuojamas biocheminių reakcijų. **DNR metilinimas** – tai metilo grupės kovalentinis prijungimas prie citozino nukleotido CpG srityje, esančioje DNR grandinėje, kur po citozino (C) nukleotido seka guanino nukleotidas (G). CpG sričių sankaupos (salos) dažnai lokalizuojasi genų reguliaciniuose elementuose, aktyvuojančiuose arba slopinančiuose geno transkripciją [8, 11].

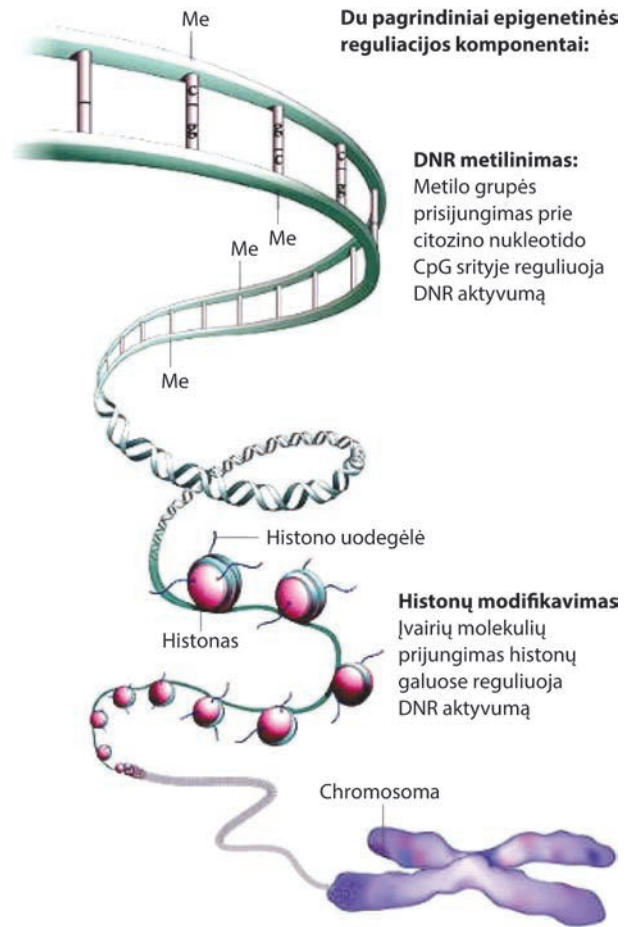
Citozinas CpG dinukleotiduose gali būti metilinamas ir sudaro 5-metilcitoziną. Žinduolių DNR 70–80 proc. CpG sričių citozinas yra metilintas. Metilinimas gali keisti genų ekspresiją. Žemas DNR metilinimas genų aktyvuojančioje srityje dažniausiai lemia didelį transkripcijos aktyvumą. Alergijos atveju tai reiškia stipresnį alerginį uždegimą.

DNR metilinimas ir histonų modifikavimas tarpusavyje sąveikauja. Šie du procesai vadinami klasikiniiais epigenetiniiais mechanizmais.

- mikro RNR** – tai svarbus potranskripcinis genų ekspresijos kontrolės reguliatorius. Ji veikia kaip buferis, kuris nuslopina aplinkos įtakoje atsiradusius genų ekspresijos proveržius. Daugelis tyrimų įrodo, kad mRNR svarbi daugeliui patologijų, taip pat ir alergijos reguliacijos mechanizmuose [13, 14]. Todėl mRNR gali tapti labai svarbiu alergijos diagnostikos įrankiu [15, 16]. Mokslinėje literatūroje išsamiai aprašomas ir mRNR, ir klasikinių epigenetinių mechanizmų (DNR/histonų modifikavimo) tarpusavio ryšys [14].

EPIGENETINIS T LĄSTELIŲ REGULIAVIMAS ALERGINIO UŽDEGIMO METU

Tyrimai rodo, kad T ląstelių diferenciacija iš pradinių T_0 į Th1, Th2 (ir Th9), Treg bei Th17 yra griežtai reguliuojama epigenetinių mechanizmų. Minėta diferenciacija yra lemiama citokinų aplinkos (vieno arba grupės svarbiausių citokinų). Pavyzdžiui, Th1 vystymąsi iš pirminių CD4+ T ląstelių lemia IFN- γ (IFNG genas). Svarbiausia su alergija susijusi Th1 limfocitų funkcija yra diferenciacijos Th2 linkme inhibicija ir 2 tipo uždegimo slopinimas. Atvirkščiai – Th2 citokinai (IL-4, IL-13, IL-5, IL-9) kritiškai svarbūs 2 tipo uždegimui, nes tiesiogiai stimuliuoja limfocitus diferencijuotis Th2 linkme, skatina B ląsteles gaminti IgE (IL-4), ilgina eozinofilų gyvavimo laiką (IL-5), didina kvėpavimo takų hiperreaktyvumą, taurinių ląstelių hiperplaziją ir gleivių gamybą (IL-13) bei skatina putliųjų ląstelių proliferaciją (IL-9) [17]. Atskirų genų sričių, atsakingų už Th1 arba Th2 citokinų gamybą, metilinimas ir



2 pav. DNR epigenetinė reguliacija (pagal Krystal Barter, 2014)

demetilinimas lemia alerginio uždegimo intensyvumą ir išplitimą.

Epigenetiniiais veiksniais aiškinamas Vokietijų susijungimo fenomenas, po kurio praėjus 20 metų dramatiškai padaugėjo alerginių ligų Rytų Vokietijoje, nors populiacijos genetinis profilis nepakito [18]. Taip pat įrodyta, kad Higienos teorijoje nustatyta mikrobu *Acinetobacter lwoffii* F78, *Lactobacillus lactis* G121, *Staphylococcus sciuri* W620 įtaka Th1 poliarizacijai sąlygota INF- γ gamybos, nes *A. lwoffii* apsaugo H4 histonus nuo acetilinimo IFNG srityje [19].

Pateikiama nemažai įrodymų, kad mikroorganizmai skatina apsaugą nuo alergijos dar prenataliniu laikotarpiu. Tyrimų metu randama bakterijų DNR neišnešiotų naujagimių placentoje ir mekonijuje. Placentoje randamas skirtingas mRNR kiekis daugelyje su imunine sistema siejamų genų sričių, kuris priklauso nuo nėščiosios gyvenimo būdo, mitybos savitumų, kontakto su bakterijomis [20]. Tėvų kontaktas su bakterijomis, aplinkos teršalais, maisto medžiagomis, kurios keičia epigenetinį profilį, gali būti itin svarbus vaiko astmos ir alergijos išsivystymui [21]. Pavyzdžiui, geno srities FOXP3, atsakingos už Treg ląsteles (slopinančias imuninį atsaką), demetilinimas ir Treg

Pulmonologija ir alergologija

ląstelių aktyvacija nustatoma vartojant nepasterizuotą pieną [22].

Atvirkščiai, virusai ir virusinės infekcijos neapsaugo nuo alerginių ligų, bet sukelia astmos paūmėjimus, galbūt, išprovokuoja jos pradžią. Svarbiausi kvėpavimo takų uždegimo sukėlėjai yra žmogaus rinovirusai (RV) ir respiraciniai sincitiniai virusai (RSV). Jei RSV dažniau aptinkamas bronchiolitu sergantiems kūdikiams, tai RV yra dažniausias astmos paūmėjimų sukėlėjas visais vaikystės laikotarpiais [23]. Taip pat manoma, kad pasikartojančios kvėpavimo takų (ypač apatinių) virusinės infekcijos gali sąlygoti astmos išsivystymą ir persistavimą iki pat brandaus amžiaus. Šis poveikis ypač ryškus, jei kartu yra genetinis polinkis alergijai ir astmai. Tokiu atveju svarbus FcεRI receptorius koduojamasis genas, kurio vieno nukleotido polimorfizmas FCER1A srityje lemia šių receptorių jautrumą RV infekcijai [24]. Yra kontraversiškų tyrimų, įrodančių ir ne oru plintančių virusų (hepatito A) svarbą alergijos procesuose.

Patikimi žiedadulkių sezono tyrimai įrodė, kad žiedadulkės yra epigenetinius procesus stipriai veikiančios aplinkos veiksniai. DNR metilinimo ir genų ekspresijos tyrimai žiedadulkių sezono laikotarpiu parodė, kad sergančiųjų alerginiu rinitu ir astma DNR metilinimas CD4+ T ląstelėse labai skyrėsi nuo sveikųjų ir priklausė nuo žiedadulkių sezono bei ligos sunkumo [25].

Oro teršalai taip pat didina alerginių ligų riziką, o jų sukelti poveikiai bent iš dalies yra susiję su epigenetine reguliacija. Aukštos policiklinių aromatinių angliavandenilių koncentracijos siejamos su DNR hipermetilimu keliose CpG srityse FOXP3 lokuse, atsakingame už Treg ląstelių reakcijas. Šis procesas ypač ryškus astma sergantiems vaikams [26]. Nėščiosios kontaktas su aromatiniais angliavandeniliais įrodytas virkštelės kraujo tyrimais ir siejamas su DNR hipermetilimu IFNG skatinančioje geno srityje [27]. Kito tyrimo metu užfiksuotas silpnas DNR metilinimas astma sergančių vaikų kvėpavimo takų gleivinėje, atskiroje CpG srityje, kuri skatina TET1 geną. Taip pat žinoma, kad po kontakto su išmetamomis automobilių dujomis, DNR metilinimas suaktyvėja [28]. Be to, vaikai, kurių DNR metilinimas FOXP3 yra aukštesnis, turi didesnę ankstyvojo švokštimo, užsitęsusio švokštimo bei astmos riziką [29]. Tyrimais nustatytas ir didelis DNR metilinimo kiekis periferinio kraujo CpG saloje ADRB2 regione, atsakingame už beta 2 receptorius bei atsaką į beta 2 agonistus, kuris sąlygoja sunkią vaikų astmą [30]. Nustatyta, kad kontaktas su išmetamųjų automobilių dujų NO₂ koreliavo su sunkia astma vaikams, kurių ADRB2 metilinimas buvo aukštas [31].

Rūkymas turi didelę įtaką kūdikių metilinimo procesams ir plaučių funkcijai. Tyrimai rodo, kad tiek ikinatalinis, tiek postnatalinis kūdikio kontaktas su

tabako dūmais ir nikotinu didina astmos riziką [32, 33]. Aktyvus rūkymas daro įtaką ne tik motinos, bet ir vaisiaus periferinio kraujo DNR metilinimo procesams [35]. Dar daugiau: nėščiosios rūkymas veikia viso vaisiaus genomo metilinimo procesus, histonų modifikacijas ir genų ekspresiją. Motinos, netgi motiūtės rūkymas nėštumo laikotarpiu siejamas su vaikų, netgi vaikaičių astma [36].

Didelės imties epigenomo sąsajų tyrimų (*EWAS – Epigenome-wide association studies*), apimančių 15 900 individų kohortą ir 6700 naujagimių kohortą, metaanalizė parodė, kad motinų rūkymas nėštumo laikotarpiu veikia vaikų epigenetiką ne tik kūdikystėje, bet ir vėlesnėje vaikystėje. Metilinimo skirtumai rasti 6000 CpG sričių, iš jų 3000 CpGs priklauso daugiau nei 2000 genų, kurie iki šio tyrimo nebuvo siejami su rūkymu [37]. Netgi metus rūkyti, buvusių rūkalių organizme DNR metilinimo pokyčiai išlieka pakitę dar kelerius metus [36]. Be to, sergantiesiems astma dažnai nustatomas genetinis detoksikacinio geno fermento gliutinationo S-transferazės deficitas, todėl kai kurie pacientai dar labiau veikiami nikotino.

Pelėms tiesioginis cigarečių dūmų įkvėpimas labai greitai po ekspozicijos keičia DNR metilinimo procesus plaučių ląstelėse. Nikotinas tiesiogiai veikia histonų modifikacijas ir siejamas su blogesne plaučių funkcija net dviem naujagimių peliukų kartoms iš eilės bei prastesniu įgimtu imuniniu atsaku į RV infekciją [38]. Vaisiui, veikiamam pasyvaus rūkymo, sutrinka MAPK9 geną skatinamos srities metilinimas ir tai siejama su sutrikusia plaučių funkcija ankstyvojoje vaikystėje.

EPIGENETINIŲ VEIKSNIŲ ĮTAKA GENETINIAM POLINKIUI SIRGTI ASTMA

Įrodyta, kad alergijos ir astmos pasireiškimą lemia aplinkos ir genų sąveika, genetinė ir epigenetinė analizė dažniausiai atliekamos kartu. Taigi, DNR metilinimas ir genotipavimas praplėtė mūsų žinias apie įvairiose chromosomose esančias sritis, susijusias su alergija ir astma, bei jų reguliaciją. Pavyzdžiui, daug žinoma apie chromosomos 17q21 lokusą, kuris genomo tyrimuose stipriausiai siejamas su vaikų astma. Su lytimi susiję DNR metilinimo pokyčiai patvirtino stipresnį berniukų polinkį sirgti astma [39]. Nustatyta RAD50 polimorfizmo sąsaja su IgE koncentracija kraujo serume. Kiti tyrinėjami su astma susiję genai – NPSR1, ALOX12, ADCYAP1R1 [40]. Pastaraisiais metais nustatyta MTRN1A polimorfizmas, kurio metilinimo skirtumai lemia astmą ir ją lydintį alerginį rinitą [41]. Didelės imties maisto alergijos genomo tyrimas patvirtino vaikų ir jų tėvų genetinius variantus HLA-DRB1 ir HLA-DQB1 lokusuose, kurių DNR metilinimo savitumai ir epigenetiniai pokyčiai sąlygoja alergiją riešutams [42].

KLINIKINIS EPIGENETINIŲ MECHANIZMŲ PANAUDOJIMAS

Šiandieniai alergijos biožymenys dažniausiai yra specifinių IgE (sIgE) tyrimai ir bazofilų aktyvacijos testai. Jie nėra jautrus numatant atopijos pradžią ir vertinant būsimo gydymo veiksmingumą. Epigenetinės modifikacijos, ypač DNR metilinimas, rodo „ląstelinę atmintį“ ir tai, kaip biožymenys plačiau taikomi autoimuninių ir onkologinių susirgimų atvejais [46]. Alerginių ligų diagnostikoje DNR metilinimo analizė naudojama vertinant alergijos rizikos ir apsauginius veiksnius bei jų įtaką. Tačiau viena svarbiausių šio proceso savybių yra tai, kad juo galima identifikuoti genetinį polinkį turinčius pacientus prieš atsirandant ligos simptomams. Taigi, atsiveria plačios ankstyvosios intervencijos ir prevencinių priemonių pritaikymo galimybės.

Diagnostinė 96 CpG sričių DNR metilinimo paletė jau naudojama alerginio maisto mėginio baigtims numatyti ir apsaugoti nuo anafilaksijos. Jos tikslumas – 79 proc. ir tai nepalyginamai tiksliau nei vertinant sIgE koncentracijas kraujo serume arba odos dūrio mėginius [34].

Epigenetiniai pokyčiai taikomi ir gydymo veiksmingumui vertinti. Pacientams, taikant įkvepiamiesiems alergenams specifinę imunoterapiją (ASIT), pasireiškia Treg ląstelėse ekspresuojamo geno FOXP3 TSDR srities demetilinimas. Tuo tarpu pacientų, kuriems 12 savaičių ASIT buvo neveiksminga, TSDR srities metilinimo lygiai išliko nepakitę. Todėl manoma, kad FOXP3 TSDR metilinimo lygis galėtų būti biožymuo ASIT veiksmingumui prognozuoti. Tie patys metilinimo pokyčiai koreliuoja ir su sIgE koncentracija kraujo serume, be to, gali būti informatyvūs nustatant anti-IgE antikūnų terapijos veiksmingumą [35, 36].

Keletas naujų tyrimų rodo naujo tyrimo – DNR metilinimo cirkuliuojančioje neląstelinėje DNR (ccfDNR), dar vadinama skystąja biopsija, naudą nustatant ir stebint autoimunes bei metaboles ligas. Tiriamos įvairių audinių ląstelių apoptozės metu iš ląstelių išsilaivusios DNR molekulės. Taip galima identifikuoti ne tik audiniams specifinę DNR, bet ir audinių ląstelių tipus arba potipius [47, 48]. Tiriant kraujo ląstelių tipams specifiskus DNR žymenis, taip pat galima įvertinti imuninių ląstelių tipus. Alerginio uždegimo atveju taip būtų galima įvertinti T ląstelių balansą arba audinių (pvz., plaučių) eozinofilinės infiltracijos lygį.

APIBENDRINIMAS IR ATEITIES PERSPEKTYVOS

Epigenetiniai mechanizmai labai svarbūs imuninei reguliacijai ir yra įtakojami daugybės aplinkos veiksnių. Epigenetikos tyrimai alerginių ligų atveju dar tik prasideda, todėl dar nėra pakankamai apibendrintų duomenų. Šiuo metu vykdomi dideli projektai PACE (angl. *Pregnancy And Childhood Epigenetics*, JAV) ir MeDALL (angl. *Mechanisms of the Development of*

Allergy, ES) pateiks patikimesnių duomenų apie epigenetinių mechanizmų svarbą alerginėms ligoms, taip pat ir astmos išsivystymui. Naujų technologijų pagalba, galima atlikti viso genomo DNR metilinimo analizę, naudojant išgrynintas, tam tikroms ligoms specifines ląsteles. Naujausi tyrimai prognozuoja didžiules galimybes, naudojant DNR metilinimo pokyčius, kaip biožymenis alergines ligas diagnozuojant bei vertinant gydymo veiksmingumą. Gali būti, kad ateityje šie tyrimai pilnai pakeis dabartinius diagnostikos metodus, leis parinkti tinkamiausius imunoterapijos protokolus ir taikyti pacientui iš tiesų individualų gydymą. Be to, atsiranda galimybė daryti įtaką epigenetiniams mechanizmom ir taikyti epigenetinio redagavimo metodus, pavyzdžiui, Th ląstelių disbalanso reguliavimą alerginių ligų atveju. Epigenetiniai pokyčiai alerginių ligų metu yra viena svarbiausių šiuolaikinių tyrimų sričių, o tyrimų rezultatai turės didelės įtakos klinikinei praktikai artimiausioje ateityje.

LITERATŪRA

1. **Savage J, Sicherer S, Wood R.** The natural history of food allergy. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2016; 4(2):196-203.
2. **Robinson D, Humbert M, Buhl R, Cruz AA, Inoue H, Korom S, et al.** Revisiting Type 2-high and Type 2-low airway inflammation in asthma: current knowledge and therapeutic implications. *Clin Exp Allergy.* 2017; 47(2):161-75.
3. **Gandhi NA, Bennett BL, Graham NM, Pirozzi G, Stahl N, Yancopoulos GD.** Targeting key proximal drivers of type 2 inflammation in disease. *Nat Rev Drug Discov.* 2016; 15(1):35-50.
4. **Tamari M, Hirota T.** Genome-wide association studies of atopic dermatitis. *J Dermatol.* 2014; 41(3):213-20.
5. **Harb H, Alashkar Alhamwe B, Garn H, Renz H, Potaczek DP.** Recent developments in epigenetics of pediatric asthma. *Curr Opin Pediatr.* 2016; 28(6):754-63.
6. **von Mutius E.** Gene-environment interactions in asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2009; 123(1):3-11.
7. **Ong PY, Leung DY.** Bacterial and viral infections in atopic dermatitis: a comprehensive review. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2016; 51(3):329-37.
8. **Sorensen M, Wickman M, Sollid JU, Furberg AS, Klingenberg C.** Allergic disease and *Staphylococcus aureus* carriage in adolescents in the Arctic region of Norway. *Pediatr Allergy Immunol.* 2016; 27(7):728-35.
9. **Pfefferle PI, Renz H.** Microbial exposure and onset of allergic diseases – potential prevention strategies? *Allergol Int.* 2014; 63(1):3-10.
10. **Kabesch M.** Early origins of asthma (and allergy). *Mol Cell Pediatr.* 2016; 3(1):31. doi: 10.1186/s40348-016-0056-4.
11. **Schubeler D.** Function and information content of DNA methylation. *Nature.* 2015; 517(7534):321-6.
12. **Rothbart SB, Strahl BD.** Interpreting the language of histone and DNA modifications. *Biochim Biophys Acta.* 2014; 1839(8):627-43.
13. **Liang Y, Chang C, Lu Q.** The genetics and epigenetics of atopic dermatitis-filaggrin and other polymorphisms. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2016; 51(3):315-28.
14. **Piletic K, Kunej T.** MicroRNA epigenetic signatures in human disease. *Arch Toxicol.* 2016; 90(10):2405-19.
15. **Alipoor SD, Adcock IM, Garssen J, Mortaz E, Varahram M, Mirsaedi M, et al.** The roles of miRNAs as potential biomarkers in lung diseases. *Eur J Pharmacol.* 2016; 791:395-404.
16. **Pattarayan D, Thimmulappa RK, Ravikummar V, Rajasekaran S.** Diagnostic potential of extracellular microRNA in respiratory diseases. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2018; 54(3):480-92.
17. **Potaczek DP, Kabesch M.** Current concepts of IgE regulation and impact of genetic determinants. *Clin Exp Allergy.* 2012; 42(6):852-71.

18. **Kramer U, Schmitz R, Ring J, Behrendt H.** What can reunification of East and West Germany tell us about the cause of the allergy epidemic? *Clin Exp Allergy.* 2015; 45(1):94–107.
19. **Brand S, Teich R, Dicke T, Harb H, Yildirim AÖ, Tost J, et al.** Epigenetic regulation in murine offspring as a novel mechanism for transmaternal asthma protection induced by microbes. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 128(3):618–25.e1–7.
20. **Khan TK, Palmer DJ, Prescott SL.** In-utero exposures and the evolving epidemiology of paediatric allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2015; 15(5):402–8.
21. **Feil R, Fraga MF.** Epigenetics and the environment: emerging patterns and implications. *Nat Rev Genet.* 2012; 13(2):97–109.
22. **Schaub B, Liu J, Höppler S, Schleich I, Huehn J, Olek S, et al.** Maternal farm exposure modulates neonatal immune mechanisms through regulatory T cells. *J Allergy Clin Immunol.* 2009; 123(4):774–82.e5.
23. **Jartti T, Gern JE.** Rhinovirus-associated wheeze during infancy and asthma development. *Curr Respir Med Rev.* 2011; 7(3):160–6.
24. **Sharma V, Michel S, Gaertner V, Franke A, Vogelberg C, von Berg A, et al.** Fine-mapping of IgE-associated loci 1q23, 5q31, and 12q13 using 1000 Genomes Project data. *Allergy.* 2014; 69(8):1077–84.
25. **Nestor CE, Barrenäs F, Wang H, Lentini A, Zhang H, Bruhn S, et al.** DNA methylation changes separate allergic patients from healthy controls and may reflect altered CD4+ T-cell population structure. *PLoS Genet.* 2014; 10(1):e1004059.
26. **Hew KM, Walker AI, Kohli A, Garcia M, Syed A, McDonald-Hyman C, et al.** Childhood exposure to ambient polycyclic aromatic hydrocarbons is linked to epigenetic modifications and impaired systemic immunity in T cells. *Clin Exp Allergy.* 2015; 45(1):238–48.
27. **Tang WY, Levin L, Talaska G, Cheung YY, Herbstman J, Tang D, et al.** Maternal exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and 5'-CpG methylation of interferon-gamma in cord white blood cells. *Environ Health Perspect.* 2012; 120(8):1195–200.
28. **Somineni HK, Zhang X, Biagini Myers JM, Kovacic MB, Ulm A, Jurcak N, et al.** Ten-eleven translocation 1 (TET1) methylation is associated with childhood asthma and traffic-related air pollution. *J Allergy Clin Immunol.* 2016; 137(3):797–805.e5.
29. **Brunst KJ, Leung YK, Ryan PH, Khurana Hershey GK, Levin L, Ji H, et al.** Forkhead box protein 3 (FOXP3) hypermethylation is associated with diesel exhaust exposure and risk for childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2013; 131(2):592–4.e1–3.
30. **Reinartz MT, Wetzke M, Happle C, Kälble S, Scherer R, Kabisch M, et al.** Neutrophilic superoxide production can assess pharmacological and pharmacogenetic beta-adrenoreceptor effects. *Allergy.* 2016; 71(8):1223–7.
31. **Fu A, Leaderer BP, Gent JF, Leaderer D, Zhu Y.** An environmental epigenetic study of ADRB2 5'-UTR methylation and childhood asthma severity. *Clin Exp Allergy.* 2012; 42(11):1575–81.
32. **Vardavas CI, Hohmann C, Patelarou E, Martinez D, Henderson AJ, Granell R, et al.** The independent role of prenatal and postnatal exposure to active and passive smoking on the development of early wheeze in children. *Eur Respir J.* 2016; 48(1):115–24.
33. **Tanaka K, Miyake Y, Furukawa S, Arakawa M.** Pre- and postnatal smoking exposure and risk of atopic eczema in young Japanese children: a prospective pre-birth cohort study. *Nicotine Tob Res.* 2017; 19(7):804–9.
34. **Fuchs O, Bahmer T, Rabe KE, von Mutius E.** Asthma transition from childhood into adulthood. *Lancet Respir Med.* 2017; 5(3):224–34.
35. **Breitling LP, Yang R, Korn B, Burwinkel B, Brenner H.** Tobacco-smoking-related differential DNA methylation: 27K discovery and replication. *Am J Hum Genet.* 2011; 88(4):450–7.
36. **Bauer T, Trump S, Ishaque N, Thürmann L, Gu L, Bauer M, et al.** Environment-induced epigenetic reprogramming in genomic regulatory elements in smoking mothers and their children. *Mol Syst Biol.* 2016; 12(3):861. doi: 10.15252/msb.20156520.
37. **Joubert BR, Felix JF, Yousefi P, Bakulski KM, Just AC, Breton C, et al.** DNA Methylation in newborns and maternal smoking in pregnancy: genome-wide consortium meta-analysis. *Am J Hum Genet.* 2016; 98(4):680–96.
38. **Rehan VK, Liu J, Naeem E, Tian J, Sakurai R, Kwong K, et al.** Perinatal nicotine exposure induces asthma in second generation offspring. *BMC Med.* 2012; 10:129. doi: 10.1186/1741-7015-10-129.
39. **Naumova AK, Al Tuwaijri A, Morin A, Vaillancourt VT, Madore AM, Berlivet S, et al.** Sex- and age-dependent DNA methylation at the 17q12-q21 locus associated with childhood asthma. *Hum Genet.* 2013; 132(7):811–22.
40. **Reinius LE, Gref A, Saaf A, Acevedo N, Joerink M, Kupczyk M, et al.** DNA methylation in the Neuropeptide S Receptor 1 (NPSR1) promoter in relation to asthma and environmental factors. *PLoS One.* 2013; 8(1):e53877.
41. **Sarnowski C, Laprise C, Malerba G, Moffatt ME, Dizier MH, Morin A, et al.** DNA methylation within melatonin receptor 1A (MTNR1A) mediates paternally transmitted genetic variant effect on asthma plus rhinitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2016; 138(3):748–53.
42. **Hong X, Hao K, Ladd-Acosta C, Hansen KD, Tsai HJ, Liu X, et al.** Genome-wide association study identifies peanut allergy-specific loci and evidence of epigenetic mediation in US children. *Nat Commun.* 2015; 6:6304. doi: 10.1038/ncomms7304.
43. **Martino D, Dang T, Sexton-Oates A, Prescott S, Tang ML, Dharmage S, et al.** Blood DNA methylation biomarkers predict clinical reactivity in food-sensitized infants. *J Allergy Clin Immunol.* 2015; 135(5):1319–28.e1311–2.
44. **Liang L, Willis-Owen SA, Laprise C, Wong KCC, Davies GA, Hudson TJ, et al.** An epigenome-wide association study of total serum immunoglobulin E concentration. *Nature.* 2015; 520(7549):670–4.
45. **Sorkness CA, Wildfire JJ, Calatroni A, Mitchell HE, Busse WW, O'Connor GT, et al.** Reassessment of omalizumab-dosing strategies and pharmacodynamics in inner-city children and adolescents. *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2013; 1(2):163–71.
46. **How Kit A, Nielsen HM, Tost J.** DNA methylation based biomarkers: practical considerations and applications. *Biochimie.* 2012; 94(11):2314–37.
47. **Sun K, Jiang P, Chan KC, Wong J, Cheng YK, Liang RH, et al.** Plasma DNA tissue mapping by genome-wide methylation sequencing for noninvasive prenatal, cancer, and transplantation assessments. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2015; 112(40):E5503–12.
48. **Moran S, Martinez-Cardus A, Sayols S, Musulén E, Balañá C, Estival-Gonzalez A, et al.** Epigenetic profiling to classify cancer of unknown primary: a multicentre, retrospective analysis. *Lancet Oncol.* 2016; 17(10):1386–95.