

Eozinofilų potipių proliferacinis aktyvumas ir imuninio atsako ypatumai sergant 2 tipo astma

PROLIFERATIVE ACTIVITY OF EOSINOPHIL SUBTYPES AND IMMUNE RESPONSE CHARACTERISTICS IN TYPE 2 ASTHMA

JOLITA PALAČIONYTĖ
LSMU MA Pulmonologijos klinika

Santrauka. 2024 m. rugpjūčio 13 d. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto viešajame medicinos Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Medicinos mokslo krypties tarybos posėdyje Jolita Palačionytė sėkmingai apgynė daktaro disertaciją „Eozinofilų potipių proliferacinis aktyvumas ir imuninio atsako ypatumai sergant 2 tipo astma“. Disertacija rengta 2019–2023 m. Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Medicinos fakulteto Pulmonologijos klinikoje. Šiame straipsnyje pateikiami pagrindiniai disertacijos rezultatai.

Mokslinis vadovas:

Prof. dr. Kęstutis Malakauskas (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001).

Disertacijos gynimo taryba:

prof. habil. dr. Vaiva Lesauskaitė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001);

prof. dr. Brigita Gradauskienė (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001);

prof. habil. dr. Albinas Naudžiūnas (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001);

prof. dr. Saulius Šatkauskas (Vytauto Didžiojo universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001);

prof. dr. Johann Christian Virchow (Rostoko universitetas, medicinos ir sveikatos mokslai, medicina – M 001).

Summary. Jolita Palačionytė successfully defended a doctoral dissertation “Proliferative activity of eosinophil subtypes and immune response characteristics in type 2 asthma” at the open session of the Medical Research Council of the Lithuanian University of Health Sciences on August 13, 2024. The Dissertation has been prepared at the Department of Pulmonology of the Faculty of Medicine of Lithuanian University of Health Sciences during the period of 2019–2023. The article presents the main results of the dissertation.

Scientific Supervisor:

Prof. Dr. Kęstutis Malakauskas (Lithuanian University of Health Sciences, Medical and Health Sciences, Medicine – M 001).

The Defense Council:

Prof. Habil. Dr. Vaiva Lesauskaitė (Lithuanian University of Health Sciences Medical and Health Sciences, Medicine – M 001);

Prof. Dr. Brigita Gradauskienė (Lithuanian University of Health Sciences Medical and Health Sciences, Medicine – M 001);

Prof. Habil. Dr. Albinas Naudžiūnas (Lithuanian University of Health Sciences Medical and Health Sciences, Medicine – M 001);

Prof. Dr. Saulius Šatkauskas (Vytautas Magnus University, Natural Sciences Medical and Health Sciences, Medicine – M 001);

Prof. Dr. Johann Christian Virchow (University of Rostock Medical and Health Sciences, Medicine – M 001).

DOI: <https://doi.org/10.37499/PIA.1484>

IVADAS

Astma yra lėtinė uždegiminė kvėpavimo takų liga [1]. Ši liga yra viena labiausiai paplitusių lėtinių ligų pasaulyje [2]. Astma serga visų šalių gyventojai, tačiau didžiausias sergamumas fiksuojamas išsivysčiusiose Vakarų šalyse [3]. Higienos instituto duomenimis, 2023 m. Lietuvoje astma sergančių asmenų skaičius siekė 67 tūkst. Panašus sergamumas išlieka nuo 2020 m. Astmai būdingas dusulys, kosulys, švokštimas, spaudimas krūtinėje [1, 4–6]. Šie simptomai įprastai

pastebimi ankstyvame amžiuje, bet tuo metu nėra saviti ir dažnai gali būti susiję su virusine kvėpavimo takų infekcija [7]. Neišnešiojimas, ankstyvos plaučių infekcijos, rinitas, rūkymas ir nutukimas yra astmos rizikos veiksniai [6].

Astma yra sudėtingesnė liga, nei manyta anksčiau, nes ji yra nevienalytė [8]. Atkreipus dėmesį į tai, pradėta domėtis astmos patogenezė, kvėpavimo takų uždegimo charakteristikomis, klinikine eiga. Taip prieš daugiau nei 10 metų pradėtos vartoti fenotipo

Disertacijos

ir endotipo sąvokos [9]. Astmos fenotipų atpažinimas yra pakankamai tikslus, atsižvelgiant į paciento lytį, amžių, alergijų (ne)buvimą, šeiminių alerginių ligų anamnezę, amžių, kai diagnozuota astma (vaikystėje arba suaugus), atsaką į gydymą įkvėpiamaisiais gliukokortikoidais ir kt. [10]. Astmos endotipo atpažinimas yra sudėtingesnis, reikalaujantis astmos patogenezės išmanymo. Tiek astmos fenotipą, tiek endotipą atpažinti padeda biologiniai žymenys [11]. Astma dažniausiai siejama su 2 tipo uždegimu [12], todėl įprastai naudojami 2 tipo biologiniai žymenys [11]: eozinofilų kiekis kraujyje ir skrepliuose, bendro imunoglobulino (Ig) E kiekis kraujyje, azoto monoksido kiekis iškvėpiamame ore (Fe_{NO}) ir perriostino kiekis serume [13], tačiau nė vienas jų nėra idealus [14]. Dėl šios priežasties ieškoma naujų, su 2 tipo uždegimo patogenezė susijusių žymenų [15]. Manoma, kad biologiškai aktyvios medžiagos, dalyvaujančios 2 tipo astmos patogenezėje, galėtų būti laikomos šiais žymenimis [16], tačiau reikia atlikti papildomus tyrimus.

Eozinofilai laikomi vienu iš svarbiausių ląstelių sergant astma [17–19]. Nustatyti du eozinofilų potipiai plaučiuose – uždegiminiai ir rezidentiniai. Panašius eozinofilus galima aptikti ir kraujyje: į plaučių rezidentinius eozinofilus panašias ląsteles (Eos_{rez}) bei į uždegiminius eozinofilus panašias ląsteles ($Eos_{užd}$). Šios ląstelės astmos patogenezėje veikia skirtingai [20]: $Eos_{užd}$ dalyvauja uždegiminiame atsake, o Eos_{rez} palaiko audinių homeostazę [21]. Eozinofilų kiekį kraujyje ir plaučiuose, jų išgyvenamumą, brendimą ir aktyvumą skatina citokinai – interleukinas 3, interleukinas 5 ir granulocitų-makrofagų kolonijas stimuliuojantis veiksnys (GM-CSF), kurie vadinami eozinofilopoetiniais. Aktyvinti eozinofilai išskiria biologiškai aktyvias medžiagas, kurios pasižymi proliferaciniu aktyvumu bronchų lygiųjų raumenų (BLR) ląstelėms [22] ir taip lemia šių ląstelių proliferaciją bei bronchų struktūros pokyčius. Taip pat eozinofilų paviršiuje yra išreikšti citokinų receptoriai, įskaitant IL-3, IL-5 ir GM-CSF receptorių [23]. Eozinofilopoetiniai gali sustiprinti savo receptorių genų raišką ir taip suintensyvinti signalo perdavimą eozinofilams, prailginti jų išgyvenamumą, padidinti aktyvumą bei sustiprinti uždegiminį atsaką [24]. Eozinofilopoetinių poveikis eozinofilams priklauso ne tik nuo šių citokinų kiekio, bet ir nuo jų receptorių kiekio eozinofilų paviršiuje [25].

Astmos gydymo tikslas – kontroliuoti simptomus, sumažinti su astma susijusių paūmėjimų, su gydymu susijusių nepageidaujamų reakcijų ir mirtingumo riziką [26]. Astma įprastai lengvai kontroliuojama standartiniu gydymu, vis dėlto ne visada pavyksta kontroliuoti ligos eigą [27]. Apie 5–10 proc. pacientų serga nekontroliuojama arba sunkia astma, dėl kurios

padidėja mirtingumas, hospitalizacijos poreikis, prasėja gyvenimo kokybė ir didėja sveikatos priežiūros išlaidos [28, 29]. Dėl šių priežasčių gydant astmą vis dažniau vartojamas klinikinės remisijos terminas [30]. Šiuo terminu apibūdinamas aukštas ligos kontrolės lygis, įskaitant astmos simptomų, paūmėjimų ir geriamųjų gliukokortikoidų poreikio nebuvimą, taip pat optimalią plaučių funkciją [31]. Atlikti tyrimai parodė, kad astmos gydymas gali būti individualizuotas ir dėl to veiksmingesnis, jeigu jis parenkamas pagal klinikinį požymius, vyraujančią patogenezinį kelią ir jame dalyvaujančius citokinus [32]. Atlikti tyrimai parodė, kad klinikinę remisiją pasiekti padeda monokloniniai antikūnai, nukreipti prieš 2 tipo uždegimo citokinus ir jų receptorių [33]. Sergant astma dažniausiai vyrauja 2 tipo uždegimas, todėl tikslinga ir toliau gilintis į jo patogenezę. Taigi, iki šiol yra nepakankamai įvertintas eozinofilų potipių proliferacinis aktyvumas. Taip pat stinga biologinių žymenų, galinčių padėti parinkti individualizuotą astmos gydymą bei prognozuoti ligos eigą.

Tyrimo tikslas – ištirti eozinofilų potipių proliferacinį aktyvumą ir imuninio atsako ypatumus sergant 2 tipo astma.

Tyrimo uždaviniai:

1. Įvertinti eozinofilopoetinių (interleukino 3, interleukino 5 ir granulocitų-makrofagų kolonijas stimuliuojančio veiksnio) poveikį pacientų, sergančių 2 tipo astma, ir sveikų asmenų eozinofilų potipių proliferaciniam aktyvumui *in vitro*.
2. Nustatyti lėtinio uždegimo ir kraujo oksidacinio streso biologinių žymenų bei užląstelinio užpildo apykaitos komponentų kiekį serume sergant alergine astma, palyginti su sveikais asmenimis, ir jų kitimą, veikiant *Dermatophagoides pteronyssinus* alergenų.
3. Įvertinti pacientų, sergančių sunkia 2 tipo eozinofiline astma, biologinių žymenų (alarminių, citokinų, chemokinų, tirpių receptorių) kiekio serume kitimą ir klinikinės remisijos kriterijus, blokuojant interleukiną 5 monokloniniu antikūnu 24 sav. laikotarpyje.

Tyrimo naujumas

Eozinofilų tyrimai atliekami nuo XIX a. ir yra tęsiami iki šiol [34]. Jau anksčiau atliktuose tyrimuose nustatyta, kad eozinofilai turi įtakos BLR ląstelių proliferacijai [35, 36], tačiau nevertinta, ar eozinofilopoetiniai sustiprina eozinofilų proliferacinį aktyvumą. Straipsnyje aprašytame tyrime siekta nustatyti eozinofilopoetinių (IL-3, IL-5 ir GM-CSF) poveikį eozinofilų potipių proliferaciniam aktyvumui. Tyrimo naujovė – tyrime naudoti eozinofilopoetiniais aktyvuoti kraujo eozinofilų potipiai ($Eos_{užd}$ ir Eos_{rez}), iš kurių, kartu su BLR ląstelėmis, sudarytos kompleksinės kultūros. Tokiu būdu siekta parodyti skirtingą eozinofilų potipių

proliferacinį aktyvumą, veikiant skirtingiems eozinofilopoezinams.

Biologiniai žymenys gali padėti atpažinti astmos endotipą ir fenotipą bei padidinti sėkmingo astmos gydymo tikimybę, pagerinti gydymo rezultatus [15]. Šiame tyrime siekta surasti naujas 2 tipo uždegimo patogenezėje dalyvaujančias biologiškai aktyvias medžiagas, kurios galėtų būti laikomos 2 tipo uždegimo žymenimis. Remiantis mokslinės literatūros duomenimis, pasirinkta 10 iki šiol mažai tirtų kraujyje cirkuliuojančių biologiškai aktyvių medžiagų [37–39]. Pasirinktos medžiagos suskirstytos į tris grupes pagal jų svarbą astmos patogenezėje: lėtinio uždegimo žymenys, kraujo oksidacinio streso žymenys ir užlaštelinio užpildo apykaitos komponentai. Tyrimai taip pat atlikti po bronchų provokacijos *Dermatophagoides pteronyssinus* alergenu, o tai iki šiol nebuvo atlikta.

Per pastarąjį dešimtmetį astmos gydyme įvyko didelis proveržis – naujai sukurti vaistai, veikiantys 2 tipo kvėpavimo takų uždegimo citokinus ir jų receptorių [40]. Monokloniniai antikūnai prieš IL-4, IL-5, IL-13 ir užkrūčio liaukos stromos limfopoetiną (TSLP) veiksmingai gydo sergančiuosius sunkia eozinofiline astma (SEA) [41]. Blokuojant IL-5, pastebimas ypač geras atsakas dėl plataus IL-5 poveikio eozinofilams [42]. Dėl šios priežasties tyrimui pasirinktas monokloninis antikūnas prieš IL-5 mepolizumabas. Siekta iširti, ar monokloniniai antikūnai prieš IL-5 veikia kitus 2 tipo uždegimo žymenis. Pasirinkta tirti: alarminus (IL-25, IL-33 ir TSLP), kurie yra itin svarbūs inicijuojant 2 tipo uždegimą; pagrindinius 2 tipo uždegimo citokinus (IL-4, IL-5 ir IL-13), kurie skatina eozinofilų kiekio padidėjimą; chemokiną (eotaksiną), kuris skatina eozinofilų migraciją; tirpius receptorių (tirpaus interleukino 5 receptoriaus alfa subvienetą (sIL-5R α) ir tirpaus didelio afiniteto imunoglobulino E receptorių (sFc ϵ RI)). Minėtų aspektų pagrindu parengtas tyrimo planas.

METODAI

Bioetikos komiteto leidimas

Tyrimas vykdytas Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikų (toliau – Kauno klinikų) Pulmonologijos klinikoje, gavus Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Regioninio biomedicininį tyrimų etikos komiteto leidimą (Nr. BE-2-13, po papildymo – Nr. BE-2-13/2015). Tyrimo laikotarpiu suplanuoti nauji tyrimai, dėl ko gautas dar vienas bioetikos leidimas (Nr. BE-2-58, po papildymo – Nr. BE-2-58/2020). Į tyrimą įtraukti tik informuoto asmens sutikimo formą pasirašę tiriamieji. Tyrimas atliktas laikantis 1964 m. Helsinkio deklaracijos principų. Šis tyrimas taip pat registruotas klinikinių tyrimų interneto puslapyje (identifikacijos numeris NCT04542902, prieiga internete: www.clinicaltrials.gov).

Tiriamųjų populiacija

Tiriamųjų populiaciją sudarė Kauno klinikų pacientai ir sveiki savanoriai. Tyrimas vykdytas nuo 2019 m. rugsėjo mėn. iki 2023 m. rugsėjo mėn. Tyrime dalyvavo 100 asmenų: 37 sergantieji nesunkia alergine astma (AA), 36 sergantieji alergine arba nealergine SEA ir 27 sveiki asmenys (SA). Priklausomai nuo daktaro disertacijos uždavinio, pagrindinė tyrimo grupė – sergantieji nesunkia AA ir (arba) SEA. Kontrolinę grupę atstovavo sveiki tiriamieji.

Tiriamųjų įtraukimo ir neįtraukimo kriterijai

Bendri įtraukimo kriterijai visiems tiriamiesiems: tiriamųjų amžius – nuo 18 iki 80 metų, pasirašyta informuoto asmens sutikimo forma. Įtraukimo kriterijai AA grupės tiriamiesiems: diagnozuota nesunki AA, mažiausiai 1 mėn. nevartojami įkvėpiamieji gliukokortikoidai, atopija mažiausiai vienam alergenui (*Dermatophagoides pteronyssinus*), kuri patvirtinta odos dūrio mėginiais. Įtraukimo kriterijai SEA grupės tiriamiesiems: ne mažiau nei prieš vienerius metus diagnozuota SEA, gydyti vartojamos didelės įkvėpjamųjų gliukokortikoidų dozės kartu su ilgo veikimo β_2 agonistu, nekontroliuojama ligos eiga (≥ 2 astmos paūmėjimai per vienerius metus, kurių metu vartojami geriamieji gliukokortikoidai), eozinofilų kiekis kraujyje siekia arba viršija $0,3 \times 10^9/l$. Įtraukimo kriterijai SA grupės tiriamiesiems: kvėpavimo sistemos ligų ir kvėpavimo simptomų nebuvimas, klinikinių alergijos simptomų ir atopijos nebuvimas (paneigta odos dūrio mėginiais). Bendri neįtraukimo kriterijai visiems tiriamiesiems: rūkymas (buvę rūkaliai), nėštumas, maitinimas krūtimi, kitos lėtinės kvėpavimo sistemos ligos, kliniškai reikšmingos nekontroliuojamos gretutinės ligos, kvėpavimo takų infekcija, kuria persirgta mažiau nei prieš 1 mėn.

Tyrimo etapai ir eiga

Pirmam disertacijos uždaviniui įgyvendinti tirti 46 asmenys: 18 sergančiųjų sunkia nealergine eozinofiline astma (SNEA), 17 sergančiųjų AA ir 11 SA. Atrankos vizitų metu vertinti visų tiriamųjų įtraukimo ir neįtraukimo kriterijai, juos atitikus pasirašyta informuoto asmens sutikimo forma, atlikta spirometrija ir odos dūrio mėginiai. Pirmo vizito metu, kuris vykdytas ne vėliau nei 7 d. nuo atrankos vizito, visiems tiriamiesiems paimtas kraujo mėginėlis, atliktas Fe_{NO} tyrimas ir spirometrija. Sergantieji AA ir SNEA taip pat turėjo užpildyti astmos kontrolės testą, o sergantiesiems AA papildomai atliktas ir bronchų inhaliacinis provokacinis mėginys su *Dermatophagoides pteronyssinus* alergenu. Sergantieji AA, praėjus 24 val. nuo bronchų inhaliacinio provokacinio mėginio su alergenu atlikimo, atvyko antram vizitui, kurio metu paimtas kraujo mėginėlis, atliktas Fe_{NO} tyrimas ir spirometrija. Antram uždavi-

Disertacijos

niui įgyvendinti tirti 36 asmenys: 20 sergančiųjų AA ir 16 SA. Šių grupių tiriamųjų tyrimo eiga buvo tokia pati, kaip ir įgyvendinant pirmą uždavinį. Trečiam uždaviniui įgyvendinti tirta 18 asmenų. Visi jie sirgo alergine arba nealergine SEA ir visiems skirtas gydymas monokloniniu antikūnu prieš IL-5 mepolizumabu. Šių pacientų tyrimas tęstas 24 sav. Per šį laikotarpį pacientai atvyko į keturis vizitus (prieš pradedant gydymą mepolizumabu, po 4 sav., 12 sav. ir 24 sav. nuo gydymo pradžios). Visų vizitų metu tiriamiesiems atliktas Fe_{NO} tyrimas, spirometrija, užpildytas astmos kontrolės testas ir į podį suleista mepolizumabo.

Instrumentiniai tyrimai

Plaučių funkcijai vertinti atlikta spirometrija. Šis tyrimas atliktas visiems tiriamiesiems. Bronchų obstrukcijos grįžtamumui vertinti – bronchų plėtimo mėginys. Šis tyrimas atliktas tiems AA grupės pacientams, kuriems atrankos vizito metu, atliekant spirometriją, nustatyta bronchų obstrukcija. Siekiant vertinti bronchų hiperreaktyvumą, atliktas bronchų inhaliacinis provokacinis mėginys su metacholinu. Šis tyrimas atliktas tiems AA grupės tiriamiesiems, kuriems atrankos vizito metu, atliekant spirometriją, bronchų obstrukcija nenustatyta. Bronchų inhaliacinis provokacinis mėginys su *Dermatophagoides pteronyssinus* alergenu atliktas visiems AA grupės tiriamiesiems. 2 tipo uždegimui nustatyti ir jo intensyvumui vertinti visiems tiriamiesiems atliktas Fe_{NO} tyrimas. Tiriamųjų įsijautrinimas alergenams vertintas atliekant odos dūrio mėginius su dažniausiai aplinkoje pasitaikančiais alergenais.

Laboratoriniai tyrimai

Iš kiekvieno tiriamojo į sterilius vakuuminius mėgintuvėlius paimta maždaug 20–50 ml kraujo (priklausomai nuo tyrimo vizito). Eozinofilams iš tiriamųjų kraujo išskirti naudotas aukšto tankio gradientas („Ficoll“, „GE Healthcare“, Suomija). Eozinofilų skirstymas potipiais atliktas naudojant magnetinius rutuliukus, konjuguotus su antikūnais („Miltenyi Biotec“, Somerville, Masačusetsas, JAV) prieš CD62L, išreikštus ant Eos_{rez} (ne ant $Eos_{užd}$) ląstelių paviršiaus. Kompleksinėms ląstelių kultūroms sudaryti naudotos nemirtingos sveiko žmogaus BLR ląstelės, išskirtos iš vieno donoro, įamžintos žmogaus telomerazės atvirkštinės transkriptazės raiška. Imunofermenitinės analizės (ELISA) tyrimas ir „Luminex® 100/200™“ technologija naudota biologiškai aktyvių medžiagų kiekiui serume išmatuoti.

Statistinė duomenų analizė

Duomenų bazė sukurta naudojant „Microsoft Office Excel“. Statistinė analizė atlikta „SPSS“ ir „GraphPad Prism“ statistinėmis programinėmis įrangomis („IBM SPSS Statistics 20“, Čikaga, JAV, ir „GraphPad Prism

8.0.1“, „GraphPad Software Inc.“, San Diegas, JAV). Naudoti aprašomosios ir analitinės statistikos metodai. Duomenų pasiskirstymo normalumas tikrintas naudojant Šapiro-Vilko testą. Pateikiami normalųjį skirstinį tenkinančių duomenų vidurkiai su standartinė vidurkio paklaida, o normaliojo skirstinio netenkinantys duomenys pateikiami mediana ir tarpkvartiliniu diapazonu. Duomenų pasiskirstymas neatitiko normalumo testo, todėl vertinant skirtumą tarp dviejų nepriklausomų grupių, kurių kiekvienoje buvo nedidelis duomenų kiekis, naudotas neparametrinis Mano-Vitnio U testas. Siekiant vertinti skirtumą tarp dviejų priklausomų imčių, taikytas neparametrinis Vilkoksono suderintų porų ranginis testas. Dviejų duomenų rinkinių koreliacijai vertinti naudotas Spirmeno ranginės koreliacijos koeficientas. Statistiškai reikšmingais laikyti rezultatai, kai statistinio patikimumo lygmuo (p) neviršijo 0,05.

REZULTATAI

Įgyvendinant pirmą disertacijos uždavinį tirta 18 sergančiųjų SNEA, 17 sergančiųjų nesunkia AA ir 11 SA (iš viso – 46 tiriamieji). SNEA grupės tiriamieji buvo reikšmingai vyresni nei AA ir SA grupių. Taip yra dėl to, kad SNEA pasireiškia vyresniame amžiuje. SNEA grupės tiriamieji turėjo didesnę kūno masės indeksą (KMI), palyginti su AA ir SA grupėmis. Forsuoto iškvėpimo tūris per pirmą sekundę (FEV_1) tiriamųjų, sergančių SNEA, grupėje buvo reikšmingai mažesnis nei AA ir SA grupėse. Tiek SNEA, tiek AA grupių tiriamųjų kraujyje eozinofilų kiekis buvo reikšmingai didesnis nei SA grupėje, o lyginant abi astma sergančiųjų grupes tarpusavyje, pastebėta, jog SNEA grupės tiriamųjų kraujyje eozinofilų yra daugiau nei sergančiųjų AA. Abiejose sergančiųjų astma grupėse Fe_{NO} kiekiai buvo reikšmingai didesni, palyginti su SA grupe, tačiau lyginant tarpusavyje, reikšmingo skirtumo nenustatyta. Bendras IgE kiekis buvo reikšmingai didesnis abiejose sergančiųjų astma grupėse, o lyginant šias grupes tarpusavyje – AA sergančiųjų grupėje. Demografiniai ir klinikiniai tiriamųjų duomenys pateikiami 1 lentelėje.

Tirtas eozinofilopoetinių (IL-3, IL-5 ir GM-CSF) poveikis eozinofilų potipių ($Eos_{užd}$ ir Eos_{rez}) proliferaciniam aktyvumui. IL-3 neturėjo įtakos nei $Eos_{užd}$, nei Eos_{rez} proliferaciniam aktyvumui SNEA sergančiųjų grupėje. O IL-5 ir GM-CSF reikšmingai sustiprino abiejų eozinofilų potipių proliferacinį aktyvumą (BLR ląstelių kiekis reikšmingai padidėjo inkubuojant su IL-5 ir GM-CSF aktyvintais eozinofilais, palyginti su BLR ląstelėmis, inkubuotomis neaktyvintais eozinofilais). AA grupėje IL-5 ir GM-CSF taip pat reikšmingai sustiprino abiejų eozinofilų potipių proliferacinį aktyvumą (BLR ląstelių kiekis reikšmingai padidėjo inkubuojant su IL-5 ir GM-CSF aktyvintais eozinofilais, palyginti su BLR ląstelėmis, inkubuotomis

neaktyvintais eozinofilais). IL-3 neturėjo reikšmingos įtakos abiejų eozinofilų potipių proliferaciniam aktyvumui. SA grupėje tik IL-5 reikšmingai sustiprino Eos_{užd} proliferacinį aktyvumą (BLR ląstelių kiekis reikšmingai padidėjo inkubuojant su IL-5 aktyvintais eozinofilais, palyginti su BLR ląstelėmis, inkubuotomis neaktyvintais eozinofilais). IL-3 ir GM-CSF neturėjo įtakos abiejų eozinofilų potipių proliferaciniam aktyvumui SA grupėje. IL-5 poveikis Eos_{užd} proliferaciniam aktyvumui buvo reikšmingai didesnis SNEA grupėje, palyginti su AA grupe. GM-CSF poveikis Eos_{rez} proliferaciniam aktyvumui buvo reikšmingai didesnis SNEA grupėje, palyginti su AA grupe. IL-3 ir GM-CSF poveikis Eos_{užd} proliferaciniam aktyvumui buvo reikšmingai didesnis AA grupėje, palyginti su SA grupe. Nustatyta, jog IL-3, IL-5 ir GM-CSF reikšmingai stipriau veikia Eos_{rez} proliferacinį aktyvumą AA grupėje, palyginti su SA grupe. IL-3, IL-5 ir GM-CSF poveikis abiejų eozinofilų potipių proliferaciniam aktyvumui buvo reikšmingai didesnis SNEA grupėje, palyginti su SA grupe. Gauti rezultatai pateikiami 2 lentelėje ir 1 pav.

Taip pat tirtas bronchų provokacijos alergenu poveikis BLR ląstelių kiekiui po 72 val. inkubacijos kartu su eozinofilo-poetiniais aktyvintais Eos_{užd} ir Eos_{rez}. BLR ląstelių kiekis vertintas prieš ir praėjus 24 val. po bronchų provokacijos alergenu. Tyrimo metu nustatyta, kad bronchų provokacija alergenu reikšmingai padidino BLR ląstelių kiekį po inkubacijos kartu su IL-5 ir GM-CSF aktyvintais Eos_{rez}, palyginti su BLR ląstelių kiekiu prieš bronchų provokaciją alergenu. O bronchų provokacija alergenu neturėjo reikšmingo poveikio BLR ląstelių kiekiui po inkubacijos kartu su IL-3 aktyvintais Eos_{rez}, palyginti su šių ląstelių kiekiu prieš bronchų provokaciją. Bronchų provokacija alergenu reikšmingai nepakeitė BLR ląstelių kiekio po 72 val. inkubacijos kartu su IL-3, IL-5 ir GM-CSF aktyvintais Eos_{užd}, palyginti su BLR ląstelių kiekiu prieš bronchų provokaciją alergenu. Gauti rezultatai pateikiami 3 lentelėje ir 2 pav.

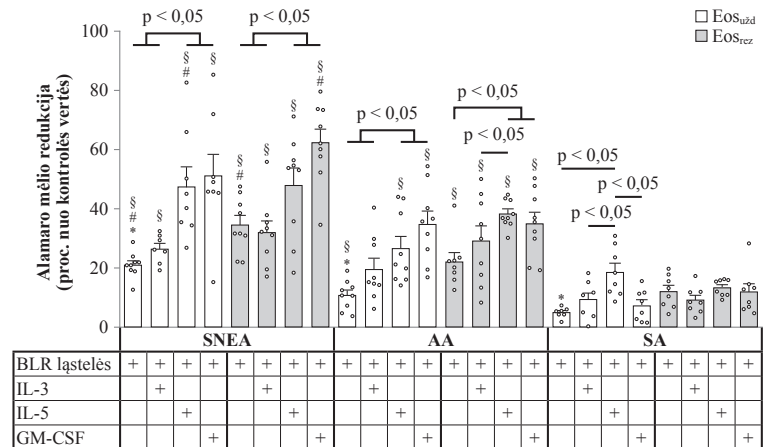
Igyvendinant antrą disertacijos uždavinį tirta 20 sergančiųjų AA ir 16 SA. 4 lentelėje pateikiami abiejų tiriamųjų grupių demografiniai ir klinikiniai duomenys. AA ir SA grupių tiriamieji amžiumi ir KMI reikšmingai

1 lentelė. Demografiniai ir klinikiniai tiriamųjų duomenys

	SNEA	AA	SA
Tirtų asmenų skaičius, n	18	17	11
Lytis, V / M	4 / 14	12 / 5	3 / 8
Amžius, metai	57,8 ± 2,4 **	28,1 ± 2,4	31,4 ± 3,2
KMI, kg/m ²	29,9 ± 1,6 **	24,0 ± 0,9	25,3 ± 1,2
FEV ₁ , l	1,6 ± 0,1 **	3,7 ± 0,2	3,7 ± 0,2
FEV ₁ , proc. būtinąjo dydžio	58,9 ± 4,7 **	86,8 ± 2,4 #	99,1 ± 3,5
PD _{20M} , mg	NA	0,22 ± 0,34	NA
PD _{20A} , HEP/ml	NA	14,12 ± 1,92	NA
Kraujo eozinofilų kiekis, × 10 ⁹ /l	0,63 ± 0,09 **	0,39 ± 0,05 #	0,17 ± 0,02
Kraujo eozinofilų kiekis, praėjus 24 val. po bronchų provokacijos alergenu, × 10 ⁹ /l	NA	0,51 ± 0,06	NA
Fe _{NO} , ppb	49,1 ± 8,3 #	51,6 ± 8,9 #	10,8 ± 1,9
Fe _{NO} , praėjus 24 val. po bronchų provokacijos alergenu, ppb	NA	78,2 ± 12,6	NA
Bendras IgE, IU/ml	158,8 ± 45,2 **	837,3 ± 316,7 #	18,2 ± 5,0
Bendras IgE, praėjus 24 val. po bronchų provokacijos alergenu, IU/ml	NA	861.1 ± 323.1	NA

AA – alerginė astma; Fe_{NO} – azoto monoksido kiekis iškvėpiamame ore; FEV₁ – forsuoto iškvėpimo tūris per pirmą sekundę; Ig – imunoglobulinas; KMI – kūno masės indeksas; M – moterys; NA – neatlikta; PD_{20A} – provokacinė alergeno dozė, nulėmusi FEV₁ sumažėjimą 20 proc.; PD_{20M} – provokacinė metacholino dozė, nulėmusi FEV₁ sumažėjimą 20 proc.; SA – sveiki asmenys; SNEA – sunki nealerginė eozinofilinė astma; V – vyrai.

Duomenų vidurkis pateikiamas su standartine vidurkio paklaida. * p < 0,05, palyginti su AA grupe; # p < 0,05, palyginti su SA grupe, § p < 0,05, palyginti su AA grupe po provokacijos alergenu.



1 pav. Bronchų lygiųjų raumenų ląstelių proliferacijos vertinimas pagal Alamaro mēlio redukciją procentais nuo kontrolės vertės

AA – alerginė astma; BLR – bronchų lygieji raumenys; Eos_{rez} – į plaučių rezidentinius eozinofilus panašios ląstelės; Eos_{užd} – į uždegiminius eozinofilus panašios ląstelės; IL – interleukinas; GM-CSF – granulocitų-makrofagų kolonijas stimuliuojantysis veiksnys; SA – sveiki asmenys; SNEA – sunki nealerginė eozinofilinė astma. SNEA grupė – n = 9, AA grupė – n = 9, SA grupė – n = 8.

Duomenų vidurkis pateikiamas su standartine vidurkio paklaida. * p < 0,05, palyginti su Eos_{rez} toje pačioje tiriamųjų grupėje; # p < 0,05, palyginti su atitinkamais sergančiųjų AA eozinofilų potipiais; § p < 0,05, palyginti su atitinkamais SA eozinofilų potipiais.

Statistinė analizė: tiriant dvi nepriklausomas grupes taikytas Mano-Vitnio U testas, dvi priklausomas grupes – Vilkssono suderintų porų ranginis testas.

nesiskyrė. FEV₁ (l) taip pat reikšmingai nesiskyrė, tačiau skirtumas tarp grupių išryškėjo, kai FEV₁ buvo išreikštas procentais. AA grupės tiriamųjų kraujyje eozinofilų, Fe_{NO} ir bendro IgE kiekis buvo reikšmingai

Disertacijos

2 lentelė. Bronchų lygiųjų raumenų ląstelių proliferacijos vertinimas pagal Alamaro mėlio redukciją procentais nuo kontrolės vertės

	SNEA		AA		SA	
	Eos _{užd}	Eos _{rez}	Eos _{užd}	Eos _{rez}	Eos _{užd}	Eos _{rez}
Neaktyvinti eozinofilai	21,1 ± 1,4 * # §	34,7 ± 3,1 # §	10,6 ± 1,7 * §	22,2 ± 3,0 §	5,1 ± 0,6 *	12,1 ± 1,9
IL-3	26,6 ± 1,8 §	32,1 ± 3,8 §	19,6 ± 3,6	29,3 ± 4,9 §	9,4 ± 2,1	9,3 ± 1,6
IL-5	47,6 ± 6,5 §	48,0 ± 5,8 §	26,6 ± 4,0 §	38,3 ± 1,6 §	18,6 ± 2,9	13,4 ± 1,0
GM-CSF	51,2 ± 7,3 * §	62,4 ± 4,5 # §	34,8 ± 4,3 §	35,1 ± 3,7 §	7,4 ± 1,9	12,0 ± 2,7

AA – alerginė astma; IL – interleukinas; GM-CSF – granulocitų-makrofagų kolonijas stimuliuojantysis veiksnys; Eos_{rez} – į plaučių rezidentinius eozinofilus panašios ląstelės; Eos_{užd} – į uždegiminius eozinofilus panašios ląstelės; SA – sveiki asmenys; SNEA – sunki nealerginė eozinofilinė astma; SNEA grupė – n = 9, AA grupė – n = 9, SA grupė – n = 8.

Duomenų vidurkis pateikiamas su standartine vidurkio paklaida. * p < 0,05, palyginti su Eos_{rez} toje pačioje tiriamųjų grupėje; # p < 0,05, palyginti su atitinkamais sergančiųjų AA eozinofilų potipiais; § p < 0,05, palyginti su atitinkamais SA eozinofilų potipiais.

Statistinė analizė: tiriant dvi nepriklausomas grupes taikytas Mano-Vitnio U testas, dvi priklausomas grupes – Vilksosono suderintų porų ranginis testas.

3 lentelė. Bronchų lygiųjų raumenų ląstelių proliferacijos vertinimas pagal Alamaro mėlio redukciją procentais nuo kontrolės vertės prieš bronchų provokaciją alergenu ir po jos

	Vizitas	Eos _{užd}	Eos _{rez}
Neaktyvinti eozinofilai	V1	10,9 ± 1,7 * #	22,2 ± 3,0
	V2	23,1 ± 2,8	39,3 ± 5,9
IL-3	V1	19,6 ± 3,6	29,3 ± 4,9
	V2	28,8 ± 8,3	43,9 ± 6,2
IL-5	V1	26,6 ± 4,0 *	38,3 ± 1,6 #
	V2	37,4 ± 7,4	61,1 ± 6,9
GM-CSF	V1	34,8 ± 4,3 *	35,1 ± 3,7 #
	V2	43,8 ± 5,9 *	66,2 ± 7,3

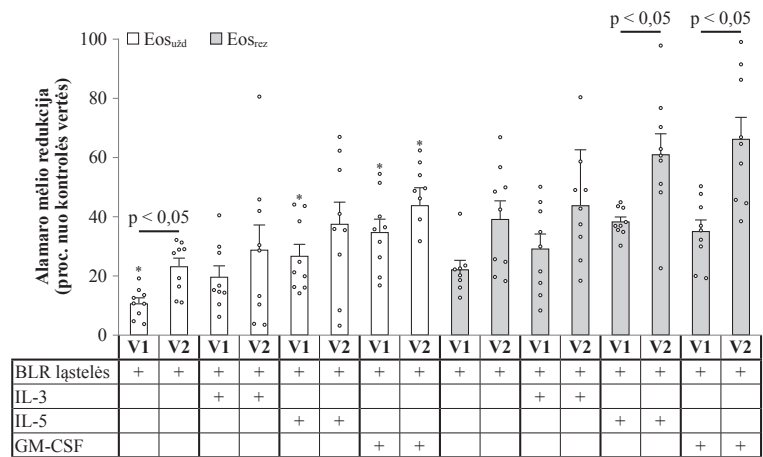
Eos_{rez} – į plaučių rezidentinius eozinofilus panašios ląstelės; Eos_{užd} – į uždegiminius eozinofilus panašios ląstelės; IL – interleukinas; GM-CSF – granulocitų-makrofagų kolonijas stimuliuojantysis veiksnys; V1 – pirmas tyrimo vizitas (prieš bronchų provokaciją alergenu); V2 – antras tyrimo vizitas, praėjus 24 val. po bronchų provokacijos alergenu. AA grupė – n = 9.

Duomenų vidurkis pateikiamas su standartine vidurkio paklaida. * p < 0,05, palyginti su Eos_{rez}; # p < 0,05, palyginti su tos pačios grupės ir to paties eozinofilų potipio V2.

Statistinė analizė: tiriant dvi nepriklausomas grupes taikytas Mano-Vitnio U testas, dvi priklausomas grupes – Vilksosono suderintų porų ranginis testas.

didesnis nei SA grupėje. AA sergančiųjų grupės FEV₁ (l) reikšmingai sumažėjo praėjus 24 val. po bronchų provokacijos alergenu, o eozinofilų kraujyje ir Fe_{NO} kiekis reikšmingai padidėjo. Bendro IgE kiekis po bronchų provokacijos alergenu reikšmingai nepasikeitė.

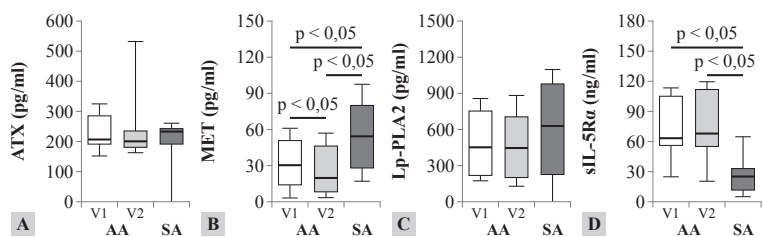
Tyrimo metu tirti lėtinio uždegimo žymenų kiekiai sergančiųjų AA ir SA grupėse (5 lentelė ir 3 pav.). Nustatyta, kad autotaksino (ATX) kiekis sergančiųjų AA serume panašus prieš ir po bronchų provokacijos alergenu bei reikšmingai nesiskyrė nuo SA. Vertinant tirozin-proteinkinazės Met (MET) kiekį serume, rasti reikšmingi skirtumai tarp AA ir SA grupių – sergančiųjų AA serume MET kiekis buvo mažesnis nei SA.



2 pav. Bronchų provokacijos alergenu poveikis eozinofilų potipių proliferaciniam aktyvumui

BLR – bronchų lygieji raumenys; IL – interleukinas; GM-CSF – granulocitų-makrofagų kolonijas stimuliuojantysis veiksnys; Eos_{rez} – į plaučių rezidentinius eozinofilus panašios ląstelės; Eos_{užd} – į uždegiminius eozinofilus panašios ląstelės; V1 – pirmas tyrimo vizitas (prieš bronchų provokaciją alergenu); V2 – antras tyrimo vizitas, praėjus 24 val. po bronchų provokacijos alergenu. AA grupė – n = 9.

Duomenų vidurkis pateikiamas su standartine vidurkio paklaida. * p < 0,05, palyginti su Eos_{rez}. Statistinė analizė: tiriant dvi nepriklausomas grupes taikytas Mano-Vitnio U testas, dvi priklausomas grupes – Vilksosono suderintų porų ranginis testas.



3 pav. Autotaksino (A), tirozin-proteinkinazės Met (B), lipoproteino A2 fosfolipazės (C) ir tirpus interleukino 5 receptoriaus alfa subvieneto (D) kiekis serume, sergant alergine astma, palyginti su sveikais asmenimis

AA – alerginė astma; ATX – autotaksinas; Lp-PLA2s – lipoproteino A2 fosfolipazė; MET – tirozin-proteinkinazė Met; SA – sveiki asmenys; sIL-5Ra – tirpus interleukino 5 receptoriaus alfa subvienetas; V1 – pirmas tyrimo vizitas; V2 – antras tyrimo vizitas, praėjus 24 val. po bronchų provokacijos alergenu. AA grupė – n = 20, SA grupė – n = 16.

Duomenys pateikiami mediana ir tarpkvartiliniu diapazonu.

Statistinė analizė: tiriant dvi nepriklausomas grupes taikytas Mano-Vitnio U testas, dvi priklausomas grupes – Vilksosono suderintų porų ranginis testas.

Praėjus 24 val. po bronchų provokacijos alergenu, MET kiekis AA grupėje reikšmingai sumažėjo, palyginti su kiekiu, kuris buvo nustatytas prieš bronchų

4 lentelė. Demografiniai ir klinikiniai tiriamųjų duomenys

	AA	SA	
Tirtų asmenų skaičius, n	20	16	
Lytis, V / M	11 / 9	6 / 10	
Amžius, metais	27,2 ± 2,2	28,2 ± 1,4	
KMI, kg/m ²	24,5 ± 1,1	22,7 ± 0,8	
Astmos kontrolės testas, balais	18,3 ± 1,3	NA	
PD _{20M} , mg	0,33 ± 0,07	NA	
PD _{20A} , HEP/ml	9,5 ± 3,0	NA	
	V1	V2	
FEV ₁ , l	3,6 ± 0,2 #	3,3 ± 0,2	4,0 ± 0,2
FEV ₁ , proc. būtinojo dydžio	88,5 ± 3,0 * #	81,3 ± 3,8 *	99,4 ± 3,3
Fe _{NO} , ppb	48,2 ± 7,5 * #	76,8 ± 11,7 *	13,3 ± 2,0
Kraujo eozinofilų kiekis, × 10 ⁹ /l	0,34 ± 0,05 * #	0,46 ± 0,05 *	0,10 ± 0,01
Bendras IgE, IU/ml	577,9 ± 175,6 *	603,4 ± 188,2 *	32,3 ± 12,9

AA – alerginė astma; Fe_{NO} – azoto monoksido kiekis iškvėpiamame ore; FEV₁ – forsuoto iškvėpimo tūris per pirmą sekundę; Ig – imunoglobulinas; KMI – kūno masės indeksas; M – moterys; NA – neatlikta; PD_{20A} – provokacinė alergeno dozė, nulėmusi FEV₁ sumažėjimą 20 proc; PD_{20M} – provokacinė metacholino dozė, nulėmusi FEV₁ sumažėjimą 20 proc.; SA – sveiki asmenys; V – vyrai; V1 – pirmas tyrimo vizitas; V2 – antras tyrimo vizitas, praėjus 24 val. po bronchų provokacijos alergenu.

Duomenų vidurkis pateikiamas su standartine vidurkio paklaida. * p < 0,05, palyginti su SA grupe; # p < 0,05, palyginti su AA sergančiųjų grupe V2.

Statistinė analizė: tiriant dvi nepriklausomas grupes taikytas Mano-Vitnio U testas, dvi priklausomas grupes – Vilksos suderintų porų ranginis testas.

5 lentelė. Sergančiųjų alergine astma ir sveikų asmenų biologiškai aktyvių medžiagų kiekiai serume

Biologiškai aktyvios medžiagos	AA		SA
	V1	V2	
ATX (pg/ml)	206,8 (190,9; 286,3)	201,5 (180,3; 235,5)	233,3 (190,9; 243,9)
MET (pg/ml)	30,5 (14,0; 51,1) * #	19,8 (8,0; 46,6) *	54,3 (28,0; 80,3)
Lp-PLA2 (pg/ml)	451,4 (216,4; 755,1)	445,5 (199,9; 706,6)	629,3 (224,9; 980,8)
sIL-5Ra (ng/ml)	63,4 (55,9; 105,4) *	67,9 (54,9; 112,1) *	25,2 (11,3; 33,2)
PTX3 (pg/ml)	560,1 (326,1; 875,2) **	498,9 (226,5; 651,1) *	1217,6 (919,8; 1580,1)
TRX1 (ng/ml)	131,2 (93,8; 173,6) **	142,0 (89,4; 195,6) *	113,9 (67,4; 136,1)
MMP-7 (pg/ml)	332,9 (241,5; 421,3)	295,1 (272,1; 327,7)	278,3 (195,3; 379,2)
MMP-9 (pg/ml)	253,7 (151,4; 339,9)	211,9 (116,9; 293,7)	204,2 (94,8; 498,0)
MMP-10 (pg/ml)	896,1 (318,9; 1501,0)	971,0 (355,7; 1682,6)	502,7 (324,0; 1052,5)
ICTP (pg/ml)	523,0 (478,0; 552,0) *	476,3 (411,6; 531,4) *	589,0 (540,0; 693,0)

AA – alerginė astma; ATX – autotaksinas; Fe_{NO} – azoto monoksido kiekis iškvėpiamame ore; ICTP – C telopeptido 1 tipo kolagenas; Lp-PLA2s – lipoproteino A2 fosfolipazė; MET – tirozinproteinkinazė Met; MMP – matriks metaloproteinazė; PTX3 – pentaksinas 3; SA – sveiki asmenys; sIL-5Ra – tirpaus interleukino 5 receptoriaus alfa subvienetas; TRX1 – tioredoksinas 1; V1 – pirmas tyrimo vizitas; V2 – antras tyrimo vizitas, praėjus 24 val. po bronchų provokacijos alergenu. AA grupė – n = 20, SA grupė – n = 16.

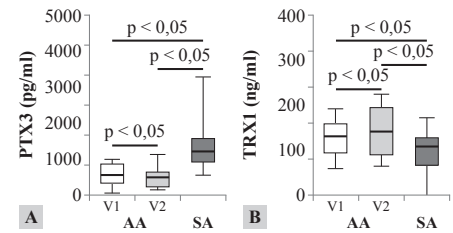
Duomenys pateikiami mediana ir tarpkvartiliniu diapazonu. * p < 0,05, palyginti su SA grupe; # p < 0,05, palyginti su AA sergančiųjų grupe V2.

Statistinė analizė: tiriant dvi nepriklausomas grupes taikytas Mano-Vitnio U testas, dvi priklausomas grupes – Vilksos suderintų porų ranginis testas.

provokaciją alergenu. Lipoproteino A2 fosfolipazės (Lp-PLA2) kiekis serume reikšmingai nesiskyrė tarp sergančiųjų AA abiejų tyrimo vizitų metu, palyginti su SA. Tirpaus interleukino 5 receptoriaus alfa subvieneto (sIL-5Ra) kiekis AA grupės tiriamųjų

ICTP kiekiui įtakos neturėjo.

Igyvendinant trečią disertacijos uždavinį tirta 18 sergančiųjų SEA. 6 lentelėje ir 6 pav. pateikiami tiriamųjų demografiniai ir klinikiniai duomenys. Dauguma tiriamųjų turėjo antsvorį ir buvo moterys.



4 pav. Pentaksino 3 (A) ir tioredoksino 1 (B) kiekiai serume sergant alergine astma ir lyginant su sveikais asmenimis

AA – alerginė astma; PTX3 – pentaksinas 3; SA – sveiki asmenys; TRX1 – tioredoksinas 1; V1 – pirmas tyrimo vizitas; V2 – antras tyrimo vizitas, praėjus 24 val. po bronchų provokacijos alergenu. AA grupė – n = 20, SA grupė – n = 16. Duomenys pateikiami mediana ir tarpkvartiliniu diapazonu.

Statistinė analizė: tiriant dvi nepriklausomas grupes taikytas Mano-Vitnio U testas, dvi priklausomas grupes – Vilksos suderintų porų ranginis testas.

serume buvo reikšmingai didesnis, palyginti su SA grupe. Po bronchų provokacijos alergenu sIL-5Ra kiekis serume AA grupėje išliko panašus, kaip ir prieš bronchų provokaciją alergenu.

Tirti pasirinkti kraujo oksidacinio streso žymenų kiekiai sergančiųjų AA ir SA grupėse (5 lentelė, 4 pav.). Reikšmingai mažesnis pentaksino 3 (PTX3) kiekis nustatytas AA grupės tiriamųjų serume, palyginti su SA grupe, o po bronchų provokacijos alergenu šis kiekis dar labiau sumažėjo. Tioredoksino 1 (TRX1) kiekis AA grupės tiriamųjų serume buvo reikšmingai didesnis nei SA grupėje. Be to, TRX1 kiekis dar labiau padidėjo praėjus 24 val. po bronchų provokacijos alergenu, palyginti su rezultatais prieš bronchų provokaciją alergenu.

Taip pat tirti užląstelinio užpildo apykaitos komponentų kiekiai sergančiųjų AA ir SA grupėse (5 lentelė, 5 pav.). Lyginant matriks metaloproteinazės (MMP) 7, MMP-9 ir MMP-10 kiekius serume abiejose tiriamųjų grupėse rezultatai buvo panašūs – visų trijų MMP kiekiai AA ir SA grupių tiriamųjų serumuose reikšmingai nesiskyrė, o atlikta bronchų provokacija alergenu įtakos šių medžiagų kiekiui neturėjo. C telopeptido 1 tipo kolageno (ICTP) kiekis serume AA sergančiųjų grupėje buvo reikšmingai mažesnis, palyginti su SA grupe, o bronchų provokacija alergenu

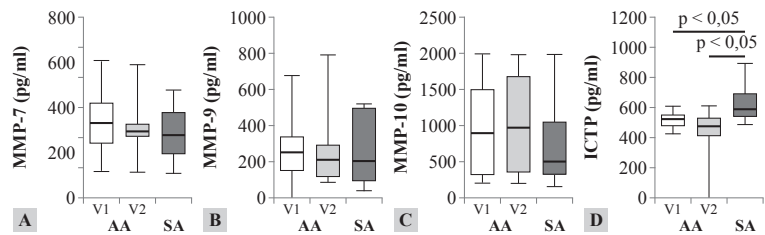
Disertacijos

Prieš pradėdant gydymą 100 mg mepolizumabo injekcija po oda, visiems pacientams kartodavosi astmos paūmėjimai. Po pirmos mepolizumabo dozės nė vienas pacientui nepasireiškė astmos paūmėjimai, tačiau po antros mepolizumabo dozės vienam pacientui paūmėjo astma. Vėliau, tęsiant gydymą mepolizumabu, pacientų, patyrusių astmos paūmėjimą, nepadaugėjo. Praėjus 4 sav. nuo gydymo mepolizumabu pradžios, astmos kontrolės testas ir FEV₁ reikšmingai padidėjo, o eozinofilų kiekis kraujyje reikšmingai sumažėjo ir šis poveikis išliko viso gydymo laikotarpiu. Fe_{NO} ir IgE kiekiai tiek prieš gydymą, tiek jo laikotarpiu reikšmingai nesiskyrė.

Praėjus 24 gydymo mepolizumabu savaitėms, pacientų, kurie nepatyrė astmos paūmėjimų ir nevarė geriamųjų gliukokortikoidų, skaičius padidėjo nuo 0 (0 proc.) iki 17 (94,4 proc.). Taip pat nuo 0 (0 proc.) iki 9 (50 proc.) padidėjo pacientų skaičius, kurių astmos kontrolės testas buvo 20 balų arba daugiau. Pacientų skaičius, kurių FEV₁ siekė arba viršijo 80 proc. po bronchus plečiamųjų vaistų įkvėpimo, padidėjo nuo 4 (22,2 proc.) iki 7 (38,9 proc.) (7A pav.).

Praėjus 24 gydymo mepolizumabu savaitėms, penki pacientai (27,8 proc.) atitiko visus keturis klinikinės remisijos kriterijus, šeši pacientai (33,3 proc.) – tris kriterijus. Prieš pradėdant gydymą mepolizumabu, nė vienas pacientas (0 proc.) neatitiko visų keturių arba trijų klinikinės remisijos kriterijų. Be to, po 24 gydymo mepolizumabu savaitių šeši pacientai (33,3 proc.) atitiko du klinikinės remisijos kriterijus ir tik vienas pacientas (5,6 proc.) – vieną kriterijų. Prieš pradėdant gydymą mepolizumabu, du klinikinės remisijos kriterijus atitiko keturi pacientai (22,2 proc.), o vieną – nė vienas pacientas (0 proc.) (7B pav.).

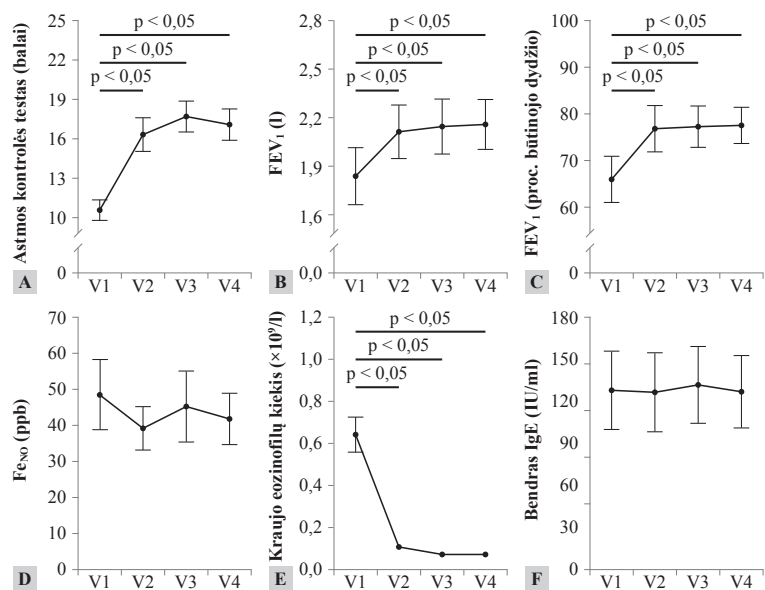
Praėjus 4 sav. nuo gydymo mepolizumabu pradžios, IL-4 ir IL-25 kiekis serume reikšmingai nepasikeitė; IL-5, IL-13, TSLP, sIL-5Rα ir tirpus didelio afiniteto imunoglobulino E receptoriaus (sFcεRI) kiekis serume reikšmingai sumažėjo ir toks išliko viso gydymo laikotarpiu. IL-33 ir eotaksino kiekis serume reikšmingai padidėjo po 4 sav., pradėjus gydymą mepolizumabu, ir toks išliko viso gydymo laikotarpiu. Rezultatai pateikiami 7 lentelėje ir 8 pav.



5 pav. Matrikso metaloproteinazės 7 (A), metaloproteinazės 9 (B), metaloproteinazės 10 (C) ir C telopeptido 1 tipo kolageno (D) kiekis serume sergant alergine astma, palyginti su sveikais asmenimis

AA – alerginė astma; ICTP – C telopeptido 1 tipo kolagenas; MMP – matrikso metaloproteinazė; SA – sveiki asmenys; V1 – pirmas tyrimo vizitas; V2 – antras tyrimo vizitas, 24 val. po bronchų provokacijos alergenu. AA grupė – n = 20, SA grupė – n = 16. Duomenys pateikiami mediana ir tarpkvartiliniu diapazonu.

Statistinė analizė: tiriant dvi nepriklausomas grupes taikytas Mano-Vitnio U testas, dvi priklausomas grupes – Vilksosono suderintų porų ranginis testas.



6 pav. Astmos kontrolės testo balų (A), forsuoto iškvėpimo tūrio per pirmą sekundę (B, C), azoto monoksido kiekio iškvėpiamame ore (D), kraujo eozinofilų ir bendro imunoglobulino E kiekio (F) pokytis per 24 sav. gydymo monokloniniu antikūnu prieš IL-5 mepolizumabu

Fe_{NO} – azoto monoksido kiekis iškvėpiamame ore; FEV₁ – forsuoto iškvėpimo tūris per pirmą sekundę; Ig – imunoglobulinas; V1 – pirmas vizitas; V2 – antras vizitas, praėjus 4 sav. po pirmos mepolizumabo injekcijos po oda; V3 – trečias vizitas, praėjus 12 sav. po pirmos mepolizumabo injekcijos po oda; V4 – ketvirtas vizitas, praėjus 24 sav. po pirmos mepolizumabo injekcijos po oda. SEA grupė – n = 18.

Duomenų vidurkis pateikiamas su standartinė vidurkio paklaida. * p < 0,05, palyginti V2; † p < 0,05, palyginti su V3; ‡ p < 0,05, palyginti su V4.

Statistinė analizė: tiriant dvi priklausomas grupes taikytas Vilksosono suderintų porų ranginis testas.

REZULTATŲ APTARIMAS

Eozinofilų potipių proliferacinis aktyvumas *in vitro*

Eozinofilų įtaka kvėpavimo takų remodeliacijai, įskaitant BLR ląstelių dauginimąsi, nustatytas palyginti anksti [36]. Jau anksčiau atliktuose tyrimuose įrodyta, kad bet kurių eozinofilų potipių įtraukimas į bendrą kultūrą reikšmingai padidina BLR ląstelių dauginimąsi [43], tačiau iki šiol tyrimų su eozinofilopoetinių aktyvintais eozinofilų potipiais nebuvo atlikta. Šio tyrimo

metu, naudojant kompleksinius eozinofiloetiniais aktyvintus kraujo eozinofilų potipius ir BLR ląstelių kultūros modelį, imituojant procesus *in vitro*, paaiškėjo, kad IL-5 ir GM-CSF, bet ne IL-3, yra svarbūs eozinofilų proliferaciniam aktyvumui. Abu šie citokinai reikšmingai sustiprino Eos_{uzd} ir Eos_{rez} poveikį BLR ląstelių proliferacijai AA ir SNEA sergančiųjų grupėse, o IL-3 tokio poveikio neturėjo. Dėl IL-5 ir GM-CSF poveikio eozinofilų potipiams reikšmingai padidėjo BLR ląstelių skaičius. Tai lemia kvėpavimo takų remodeliaciją, bronchų sienelės sustorėjimą ir kvėpavimo takų susiaurėjimą, nulemiantį obstrukciją. Šiuo metu astmai gydyti naudojami monokloniniai antikūnai yra nukreipti prieš IL-5 ir jo receptorius. Remiantis gautais tyrimų rezultatais, manoma, kad GM-CSF blokavimas gali būti alternatyvus taikiny gydant astmą.

Siekiant įvertinti eozinofiloetinių poveikį imituojant astmos paūmėjimą, naudotas labiausiai aplinkoje paplitęs namų dulkių erkės alergenai *Dermatophagoides pteronyssinus*, su kuriuo žmonės nuolat kontaktuoja. Šis tyrimas parodė, kad bronchų provokacija alergenu sustiprina Eos_{uzd} proliferacinį aktyvumą, bet eozinofiloetinių poveikis papildomai nepadidina jų atsako. Galima daryti prielaidą, kad Eos_{uzd} kaulų čiulpuose išsiskiria aktyvesnės būsenos arba turi didesnę aktyvintų eozinofiloetinių receptorių kiekį, todėl jų proliferacinį aktyvumą mažiau veikia eozinofiloetiniai. Bronchų provokacija alergenu sustiprino Eos_{rez} proliferacinį aktyvumą, IL-5 ir GM-CSF padidino jų atsaką, o tai leidžia daryti prielaidą, kad Eos_{rez} gali būti mažiau aktyvinti, o bronchų provokacija alergenu, imituojant astmos paūmėjimą, sustiprina jų atsaką į IL-5 ir GM-CSF. Galima spėti, kad sustiprėjusi BLR proliferacija, esant astmos paūmėjimui, gali būti susijusi su Eos_{rez} funkcijomis ir su IL-5 bei GM-CSF poveikiu jų proliferaciniam aktyvumui, bet ne su Eos_{uzd} funkcijomis ir eozinofiloetinių poveikiu jų proliferaciniam aktyvumui.

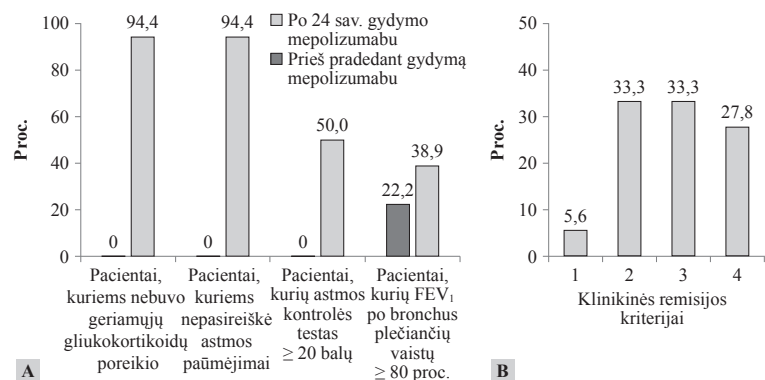
Naujų 2 tipo uždegimo žymenų kiekiams sergant alergine astma, ir jų pokytis, veikiant *Dermatophagoides pteronyssinus* alergenu

Su lėtiniu uždegimu susijusios biologiškai aktyvios medžiagos (ATX, MET, Lp-PLA2s, sIL-5Ra), sergant astma, prisideda prie kvėpavimo takų uždegimo ska-

6 lentelė. Demografiniai ir klinikiniai tiriamųjų duomenys

		SEA			
Tirtų asmenų skaičius, n		18			
Lytis, V / M		4 / 14			
Amžius, metais		57,6 ± 2,2			
KMI, kg/m ²		30,3 ± 1,7			
		V1	V2	V3	V4
Tiriamųjų, kurie patyrė astmos paūmėjimus, skaičius		18	0	1	0
Astmos kontrolės testas, balais		10,6 ± 0,8 * # †	16,3 ± 1,3	17,7 ± 1,2	17,1 ± 1,2
FEV ₁ , l		1,84 ± 0,18 * # †	2,11 ± 0,16	2,15 ± 0,17	2,16 ± 0,15
FEV ₁ , proc. būtinojo dydžio		66,0 ± 4,9 * # †	76,9 ± 4,9	77,3 ± 4,4	77,6 ± 3,8
FeNO, ppb		48,6 ± 9,7	39,3 ± 6,0	45,3 ± 9,8	41,9 ± 7,1
Kraujo eozinofilų kiekis, × 10 ⁹ /l		0,64 ± 0,08 * # †	0,11 ± 0,02	0,07 ± 0,01	0,07 ± 0,01
Bendras IgE, IU/ml		128,1 ± 27,9	126,7 ± 28,0	131,9 ± 27,3	127,0 ± 25,7

FeNO – azoto monoksido kiekis iškvėpiamame ore; FEV₁ – forsuoto iškvėpimo tūris per pirmą sekundę; Ig – imunoglobulinas; KMI – kūno masės indeksas; M – moterys; V – vyrai; V1 – pirmas vizitas; V2 – antras vizitas, praėjus 4 sav. po pirmos mepolizumabo injekcijos po oda; V3 – trečias vizitas, praėjus 12 sav. po pirmos mepolizumabo injekcijos po oda; V4 – ketvirtas vizitas, praėjus 24 sav. po pirmos mepolizumabo injekcijos po oda. Duomenų vidurkis pateikiamas su standartinė vidurkio paklaida. * p < 0,05, palyginti V2; # p < 0,05, palyginti su V3; † p < 0,05, palyginti su V4. Statistinė analizė: tiriant dvi priklausomas grupes taikytas Vilksos suderintų porų ranginis testas.



7 pav. 24 sav. monokloniniu antikūniu prieš interleukiną 5 mepolizumabu gydytų pacientų, atitinkančių atskirus klinikinės remisijos kriterijus, skaičius (A); 24 sav. monokloniniu antikūniu prieš interleukiną 5 mepolizumabu gydytų pacientų, atitinkančių vieną, du, tris arba visus keturis klinikinės remisijos kriterijus, skaičius (B)

FEV₁ – forsuoto iškvėpimo tūris per pirmą sekundę. SEA grupė – n = 18.

tinimo ir palaikymo. Tyrimai *in vitro* rodo, kad ATX aktyvuoja įvairius ląstelių tipus [44], susijusius su kvėpavimo takų uždegimu, o Lp-PLA2 yra fermentas, susijęs su uždegimu ir įvairių ligų, įskaitant astmą, patogenezę [45]. Šio tyrimo metu nenustatyta, kad su lėtiniu uždegimu susijusios medžiagos galėtų turėti prognostinės vertės atpažįstant AA fenotipą. MET signalo perdavimas glaudžiai susijęs su imuninių ląstelių aktyvinimu ir citokinų bei chemokininų, susijusių su astmos patogenezę, gamyba [46]. MET aktyvinimas ir jo signalo perdavimas gali padidinti uždegiminių lą-

Disertacijos

7 lentelė. 2 tipo uždegimo žymenų kiekis serume 24 sav. gydant prieš interleukiną 5 nukreiptu vaistu mepolizumabu

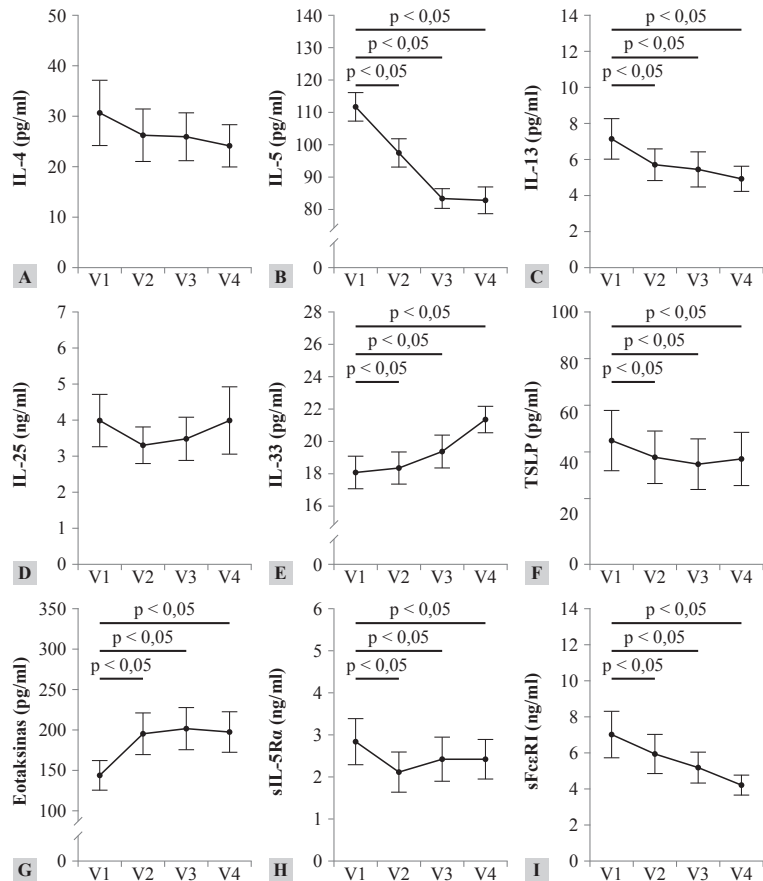
	SEA			
	V1	V2	V3	V4
IL-4 (pg/ml)	30,7 ± 6,5	26,3 ± 2,2	26,0 ± 4,7	24,2 ± 4,2
IL-5 (pg/ml)	111,7 ± 4,4 ^{**#}	97,5 ± 4,3	83,5 ± 3,0	82,8 ± 4,1
IL-13 (pg/ml)	7,2 ± 1,1 ^{**#}	5,7 ± 0,9	5,5 ± 1,0	4,9 ± 0,8
IL-25 (ng/ml)	4,0 ± 0,7	3,3 ± 0,5	3,5 ± 0,6	4,0 ± 0,9
IL-33 (pg/ml)	18,1 ± 1,0 ^{**#}	18,4 ± 1,0	19,4 ± 1,0	21,3 ± 0,8
TSLP (pg/ml)	49,1 ± 11,9 ^{**#}	42,4 ± 10,3	39,7 ± 10,0	41,8 ± 10,5
sIL-5Ra (ng/ml)	2,84 ± 0,55 ^{**#}	2,11 ± 0,47	2,43 ± 0,52	2,42 ± 0,47
Eotaksinas (pg/ml)	143,9 ± 18,2 ^{**#}	195,3 ± 25,5	201,7 ± 25,9	197,5 ± 24,8
sFcεRI (ng/ml)	7,0 ± 1,3 ^{**#}	5,9 ± 1,1	5,2 ± 0,9	4,2 ± 0,6

IL – interleukinas; SEA – sunki eozinofilinė astma; sFcεRI – tirpus didelio afiniteto imunoglobulino E receptorius; sIL-5Ra – tirpaus interleukino 5 receptoriaus alfa subvienetas; TSLP – užkrūčio liaukos stromos limfopoetinas; V1 – pirmas vizitas; V2 – antras vizitas, praėjus 4 sav. po pirmos mepolizumabo injekcijos po oda; V3 – trečias vizitas, praėjus 12 sav. po pirmos mepolizumabo injekcijos po oda; V4 – ketvirtas vizitas, praėjus 24 sav. po pirmos mepolizumabo injekcijos po oda. SEA grupė – n = 18.

Duomenų vidurkis pateikiamas su standartinė vidurkio paklaida. * p < 0,05, palyginti V2; # p < 0,05, palyginti su V3; † p < 0,05, palyginti su V4.

Statistinė analizė: tiriant dvi priklausomas grupes taikytas Vilkssono suderintų porų ranginis testas.

telių, tokių kaip eozinofilai ir T limfocitai, aktyvumą kvėpavimo takuose. Be to, MET nulemtas citokinų išsiskyrimas gali sukelti arba paūminti jau esamą kvėpavimo takų uždegimą ir tokiu būdu nulemti ligos sunkumą [47, 48]. Šio tyrimo rezultatai parodė reikšmingą MET kiekio sumažėjimą tiek prieš, tiek praėjus 24 val. po bronchų provokacijos alergenu, o tai rodo galimą MET įtaką AA patogenezėje ir jo reakciją į alergenu poveikį. MET veikia kaip hepatocitų augimo veiksnio receptorius, o kai hepatocitų augimo veiksniai prisijungia prie MET receptoriaus, suaktyvinami tarpląsteliniai signalų perdavimo keliai, kurie yra labai svarbūs sergant astma [48]. MET kiekio sumažėjimas sergančiųjų AA serume gali reikšti šių receptorių proteolitinio skilimo slopinimą, o tai rodo ryškesnę su MET susijusį signalo perdavimą ir imuninių ląstelių aktyvinimą. sIL-5Ra, kuris susidaro atsiskyrus užląsteliniam domeniui, yra aptinkamas kraujyje [49]. Šio tyrimo rezultatai rodo, kad sergant AA sIL-5Ra kiekis yra reikšmingai didesnis nei SA,



8 pav. Interleukino 4 (A), interleukino 5 (B), interleukino 13 (C), interleukino 25 (D), interleukino 33 (E), užkrūčio liaukos stromos limfopoetino (F), eotaksino (G), tirpaus interleukino 5 receptoriaus alfa subvieneto (H), tirpus didelio afiniteto imunoglobulino E receptorius (I) kiekis serume 24 sav. gydant prieš interleukiną 5 nukreiptu vaistu mepolizumabu

IL – interleukinas; SEA – sunki eozinofilinė astma; sFcεRI – tirpus didelio afiniteto imunoglobulino E receptorius; sIL-5Ra – tirpaus interleukino 5 receptoriaus alfa subvienetas; TSLP – užkrūčio liaukos stromos limfopoetinas; V1 – pirmas vizitas; V2 – antras vizitas, praėjus 4 sav. po pirmos mepolizumabo injekcijos po oda; V3 – trečias vizitas, praėjus 12 sav. po pirmos mepolizumabo injekcijos po oda; V4 – ketvirtas vizitas, praėjus 24 sav. po pirmos mepolizumabo injekcijos po oda. SEA grupė – n = 18.

Duomenų vidurkis pateikiamas su standartinė vidurkio paklaida. * p < 0,05, palyginti V2; # p < 0,05, palyginti su V3; † p < 0,05, palyginti su V4.

Statistinė analizė: tiriant dvi priklausomas grupes taikytas Vilkssono suderintų porų ranginis testas.

tačiau bronchų provokacija alergenu sIL-5Ra kiekio, sergant AA, nekeičia. Tai rodo ilgalaikį IL-5 signalo perdavimą ir nuolatinį eozinofilinį uždegimą.

PTX3 reguliuoja kvėpavimo takų uždegimą, kvėpavimo takų remodeliavimo ir oksidacinio streso procesus, todėl jis yra potencialus astmos sunkumo biologinis žymuo ir taip pat gydymo taikiny [50]. Šio tyrimo rezultatai parodė mažesnę PTX3 kiekį sergančiųjų AA serume, palyginti su SA. Be to, po bronchų provokacijos alergenu PTX3 kiekis reikšmingai sumažėjo, palyginti su kiekiu prieš bronchų provokaciją alergenu. PTX3 kiekio serume sumažėjimas, sergant AA, gali būti nulemtas keleto priežasčių. PTX3 kiekis serume gali svyruoti, o tai rodo uždegiminiuosius procesus, susijusius su šia kvėpavimo takų liga. Be to, PTX3 prisideda prie

audinių atkūrimo ir regeneracijos, o tai padeda moduluoti uždegiminį atsaką, kuris yra labai svarbus gydant pažeistus audinius. Kaip imuninis modulatorius, PTX3 gali turėti įtakos pakitusiam imuniniam atsakui sergant astma, o sumažėję PTX kiekiai gali rodyti imuninio profilio pokytį kitų imuninių molekulių naudai. TRX1 dalyvauja reguliuojant kvėpavimo takų uždegimą ir oksidacinį stresą. TRX1 kiekis AA tiriamųjų grupėje buvo reikšmingai didesnis nei SA grupėje, o tai rodo galimą ryšį tarp TRX1 ir AA. Šie rezultatai taip pat rodo, kad TRX1 gali turėti įtakos alerginėms reakcijoms ir gali būti šio astmos fenotipo žymeniu. Be to, TRX1 kiekis AA grupėje reikšmingai padidėjo praėjus 24 val. po bronchų provokacijos alergenu. Tai rodo, kad alergeno poveikis sukelia atsaką, dėl kurio padidėja TRX1 gamyba arba išsiskyrimas į kraują.

MMP yra proteolitinių fermentų šeima, dalyvaujanti remodeliuojant užląstelinio užpildo komponentus, tokius kaip kolagenas ir elastinas, o šie yra ypač reikšmingi sergant astma [51]. MMP-7, MMP-9 ir MMP-10 yra svarbūs astmos patogenezėje, ypač atsižvelgiant į kvėpavimo takų remodeliavimą ir užląstelinio užpildo pokyčius. Pagrindinis šio tyrimo pastebėjimas – MMP-7, MMP-9 ir MMP-10 kiekiai serume abiejose tirtose grupėse išliko panašūs, o tai rodo, kad jos gali neturėti jokios prognostinės reikšmės sergant astma. Taip pat tirtas kolageno skilimo žymuo ICTP. Nustatyta, kad sergančiųjų AA serume ICTP kiekis reikšmingai mažesnis nei SA. Sergant astma, kvėpavimo takų remodeliacija pasižymi padidėjusia užląstelinio užpildo baltymų gamyba [52]. Ši padidėjusi kvėpavimo takų audinių masė gali atsirasti dėl padidėjusios užląstelinio užpildo baltymų gamybos arba sumažėjusio jų skilimo [53]. Mažesnis ICTP kiekis, kuris nustatytas šio tyrimo laikotarpiu, gali būti paaiškintas sumažėjusiu kolageno skaidymu kvėpavimo takų audinyje.

Klinikinės remisijos kriterijai ir 2 tipo uždegimo citokinų kiekio serume pokyčiai, sergant sunkia eozinofiline astma, 24 sav. gydant ją monokloniniu antikūnu prieš interleukiną 5

Atliktas tyrimas parodė, kad monokloninis antikūnas prieš IL-5 mepolizumabas lemia geresnę astmos kontrolę (padidėja astmos kontrolės testo balų skaičius), ilgalaikį plaučių funkcijos pagerėjimą (padidėja FEV₁) ir eozinofilinio uždegimo susilpnėjimą (sumažėja eozinofilų kiekis kraujyje). Taip pat nustatyta, kad bendro IgE kiekis serume gydymo laikotarpiu reikšmingai nepakito. Fe_{NO} kiekis gydant mepolizumabu taip pat reikšmingai nepakito ir tai atitinka kitų tyrimų rezultatus, kurie neparodė Fe_{NO} pokyčių gydymo laikotarpiu [54, 55]; priešingai, nustatyta, kad jo kiekis reikšmingai padidėjo [56]. Šio tyrimo rezultatai parodė, kad po 24 sav. gydymo mepolizumabu beveik du trečdaliai pacientų atitiko tris arba keturis astmos remisijos kriterijus.

Nors mepolizumabas blokuoja IL-5, šio tyrimo rezultatai rodo, kad 2 tipo uždegimo slopinimas sumažina TSLP ir padidina IL-33 kiekį serume, o IL-25 kiekis nepasikeičia. Šiuos rezultatus galima paaiškinti tuo, kad ne tik alarminai skatina citokinų išsiskyrimą, bet yra ir grįžtamasis ryšys – 2 tipo citokinų poveikis epiteliui. Taip pat nustatyta, kad IL-33 kiekis serume padidėja, o IL-4 kiekis išlieka panašus. Nepakitęs IL-4 kiekis serume gydymo laikotarpiu rodo kompensacinius IL-4 mechanizmus. Be to, nustatyta, kad gydymo mepolizumabu laikotarpiu eotaksino kiekis serume reikšmingai padidėja. To priežastis galėtų būti tai, kad patys eozinofilai gali moduluoti chemokinų, įskaitant eotaksiną, gamybą, tiesiogiai sąveikaudami su kitomis ląstelėmis arba per jų išskiriamus citokinus. Tokių reguliavimo funkcijų nebuvimas arba sumažėjimas gali sukelti per didelę eotaksino gamybą kitose imuninės sistemos ląstelėse, tokiose kaip epitelio, endotelio ląstelės ir fibroblastai. Tiriant tirpių receptorių kiekį kraujyje, nustatyta, kad gydymo mepolizumabu metu sIL-5R α kiekis serume reikšmingai sumažėja. Tai galima paaiškinti tuo, kad po gydymo mepolizumabu organizmas gali norėti išlaikyti likusį IL-5 lygį ir sIL-5R α į kraują neišsiskiria. Šio tyrimo rezultatai taip pat rodo, kad gydymas mepolizumabu sumažina cirkuliuojančio sFc ϵ RI kiekį. Šį sumažėjimą galima paaiškinti keliais mechanizmais: pirma, eozinofilų skaičiaus sumažėjimas gali tiesiogiai sumažinti sFc ϵ RI gamybą; antra, IL-5 aktyvumo sumažėjimas gali lemti imuninės sistemos aktyvacijos sumažėjimą, įskaitant kelius, susijusius su sFc ϵ RI gamyba arba išsiskyrimu iš ląstelės paviršiaus [57].

IŠVADOS

1. Eozinofilopoetiniai interleukinas 5 ir granulocitų-makrofagų kolonijas stimuliuojantis veiksnys, bet ne interleukinas 3, skatina abiejų eozinofilų potipių (į plaučių rezidentinius ir uždegiminius eozinofilus panašių ląstelių), išskirtų iš sergančiųjų 2 tipo astma kraujo, proliferacinį aktyvumą bronchų lygiųjų raumenų ląstelėms *in vitro*, palyginti su sveikais asmenimis. Abiejų eozinofilų potipių proliferacinis aktyvumas siejamas su eozinofilų paviršiaus interleukino 5 receptoriaus geno raiška. Be to, į plaučių rezidentinius eozinofilus panašių ląstelių proliferacinis aktyvumas dar labiau sustiprėjo veikiant *Dermatophagoides pteronyssinus* alergenu, palyginti su proliferaciniu aktyvumu, kai alergeno nėra.
2. Biologinių žymenų analizė rodo, kad:
 - Tirozin-proteinkinazės Met, pentaksino 3 ir C telopeptido 1 tipo kolageno kiekis serume yra mažesnis tarp sergančiųjų alergine astma, palyginti su sveikais asmenimis. Be to, veikiant *Dermatophagoides pteronyssinus* alergenu, tirozin-proteinkinazės Met ir pentaksino 3 kiekis dar labiau sumažėjo.

Disertacijos

- Tirpaus interleukino 5 receptoriaus alfa subvieneto ir tioredoksino 1 kiekis serume yra didesnis sergančiųjų alergine astma nei sveikų asmenų grupėje. Be to, veikiant *Dermatophagoides pteronyssinus* alergenu, tioredoksino 1 kiekis dar labiau padidėjo.
 - Autotaksino ir matrikso metaloproteinazės 7, metaloproteinazės 9 bei metaloproteinazės 10 kiekiai serume tarp sergančiųjų alergine astma ir sveikų asmenų reikšmingai nesiskyrė.
 - Tirpaus interleukino 5 receptoriaus alfa subvieneto kiekis serume teigiamai susijęs su žinomais 2 tipo astmos biologiniais žymenimis (azoto monoksido kiekiu iškvėpiamame ore, kraujo eozinofilų kiekiu, bendro imunoglobulino E kiekiu), o tai rodo galimą šio biologinio žymens svarbą alerginės kilmės uždegime.
3. Interleukino 5 blokavimas, sergant sunkia eozinofiline astma, sumažina interleukino 13, užkrūčio liaukos stromos limfopoetino, tirpaus interleukino 5 receptoriaus alfa subvieneto, tirpaus didelio afiniteto imunoglobulino E receptoriaus kiekius serume ir padidina klinikinės remisijos kriterijų pasiekiamumą.

PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS

Šis tyrimas papildė žinias apie astmos patogenezę. Tyrimo metu nustatyta, kad eozinofilopoetinais interleukinas 5 ir granulocitų-makrofažų kolonijas stimuliuojantis veiksnys sustiprina abiejų eozinofilų potipių proliferacinį aktyvumą bronchų lygiųjų raumenų ląstelėms. Dėl šios priežasties interleukino 5 ir granulocitų-makrofažų kolonijas stimuliuojančio veiksnio poveikio slopinimas gali sumažinti bronchų lygiųjų raumenų ląstelių proliferaciją, tuo pačiu ir kvėpavimo takų remodeliaciją, sergant 2 tipo astma. Sergančiųjų alergine astma serume tirozin-proteinkinazės Met, pentaksino 3, tioredoksino 1, C telopeptido 1 tipo kolageno, o ypač tirpaus interleukino 5 receptoriaus alfa subvieneto kiekiai skiriasi nuo sveikų asmenų. Vertinant tai, šie biologiniai žymenys gali būti pasirenkami nustatant uždegimo tipą klinikinėje praktikoje ir parenkant individualizuotą gydymą. Tyrimas atskleidė, kad interleukino 5 blokavimas turi įtakos ne tik interleukino 5, bet ir kitų 2 tipo uždegimo citokinų pusiausvyrai, o tai gali būti svarbu parenkant biologinį vaistą sunkiai eozinofilinei astmai gydyti.

STRAIPSNIAI, KURIOSE PASKELBTI DISERTACIJOS REZULTATAI

1. Palacionyte J, Januskevicius A, Vasyle E, Rimkunas A, Bajoriuniene I, Miliauskas S, Malakauskas K. IL-5 and GM-CSF, but Not IL-3, Promote the proliferative properties of inflammatory-like and lung resident-like eosinophils in the blood of asthma patients. *Cells*. 2022;11(23):3804.
2. Palacionyte J, Januskevicius A, Vasyle E, Rimkunas A, Bajoriuniene I, Vitkauskiene A, Miliauskas S, Malakauskas K. Novel

serum biomarkers for patients with allergic asthma phenotype. *Biomedicines*. 2024;12(1):232.

3. Palacionyte J, Januskevicius A, Vasyle E, Rimkunas A, Miliauskas S, Malakauskas K. Clinical remission criteria and serum levels of type 2 inflammation mediators during 24 weeks of treatment with the anti-IL-5 drug mepolizumab in patients with T2-high severe asthma. *Diagnostics (Basel)*. 2024;14(13):1345.

LITERATŪRA

1. Hashmi ME, Cataletto ME. Asthma. *StatPearls*. Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Mary Cataletto declares no relevant financial relationships with ineligible companies. 2024.
2. Kaplan A, van Boven JFM, Ryan D, Tsiligianni I, Bosnic-Anticevich S, Group REGAW. GINA 2020: potential impacts, opportunities, and challenges for primary care. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2021;9(4):1516–9.
3. Holgate ST, Wenzel S, Postma DS, Weiss ST, Renz H, Sly PD. Asthma. *Nat Rev Dis Primers*. 2015;1(1):15025.
4. Stubbs MA, Clark VL, McDonald VM. Living well with severe asthma. *Breathe (Sheff)*. 2019;15(2):e40–e9.
5. Zajac D, Wojciechowski P. The Role of Vitamins in the pathogenesis of asthma. *Int J Mol Sci*. 2023;24(10).
6. Wu TD, Brigham EP, McCormack MC. Asthma in the primary care setting. *Med Clin North Am*. 2019;103(3):435–52.
7. Saikumar Jayalatha AK, Hesse L, Ketelaar ME, Koppelman GH, Nawijn MC. The central role of IL-33/IL-1RL1 pathway in asthma: from pathogenesis to intervention. *Pharmacol Ther*. 2021;225:107847.
8. Ilmarinen P, Kankaanranta H. Eosinophil apoptosis as a therapeutic target in allergic asthma. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2014;114(1):109–17.
9. Dunican EM, Fahy JV. The Role of Type 2 Inflammation in the pathogenesis of asthma exacerbations. *Ann Am Thorac Soc*. 2015;12 Suppl 2(Suppl 2):S144–9.
10. Levy ML, Bacharier LB, Bateman E, Boulet LP, Brightling C, Buhl R, et al. Key recommendations for primary care from the 2022 Global Initiative for Asthma (GINA) update. *NPJ Prim Care Respir Med*. 2023;33(1):7.
11. Wan XC, Woodruff PG. Biomarkers in severe asthma. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2016;36(3):547–57.
12. George L, Brightling CE. Eosinophilic airway inflammation: role in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Ther Adv Chronic Dis*. 2016;7(1):34–51.
13. Tiotiu A. Biomarkers in asthma: state of the art. *Asthma Res Pract*. 2018;4:10.
14. Coumou H, Bel EH. Improving the diagnosis of eosinophilic asthma. *Expert Rev Respir Med*. 2016;10(10):1093–103.
15. Kuruvilla ME, Lee FE, Lee GB. Understanding asthma phenotypes, endotypes, and mechanisms of disease. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2019;56(2):219–33.
16. Caminati M, Pham DL, Bagnasco D, Canonica GW. Type 2 immunity in asthma. *World Allergy Organ J*. 2018;11(1):13.
17. Kita H. Eosinophils: multifunctional and distinctive properties. *Int Arch Allergy Immunol*. 2013;161 Suppl 2(0 2):3–9.
18. Wechsler ME, Munitz A, Ackerman SJ, Drake MG, Jackson DJ, Wardlaw AJ, et al. Eosinophils in Health and Disease: A State-of-the-art review. *Mayo Clin Proc*. 2021;96(10):2694–707.
19. Tliba O, Panettieri RA, Jr. Paucigranulocytic asthma: uncoupling of airway obstruction from inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2019;143(4):1287–94.
20. Mesnil C, Raulier S, Paulissen G, Xiao X, Birrell MA, Pirottin D, et al. Lung-resident eosinophils represent a distinct regulatory eosinophil subset. *J Clin Invest*. 2016;126(9):3279–95.
21. Abdala-Valencia H, Coden ME, Chiarella SE, Jacobsen EA, Bochner BS, Lee JJ, et al. Shaping eosinophil identity in the tissue contexts of development, homeostasis, and disease. *J Leukoc Biol*. 2018;104(1):95–108.
22. Gregory B, Kirchem A, Phipps S, Gevaert P, Pridgeon C, Rankin SM, et al. Differential regulation of human eosinophil IL-3, IL-5, and GM-CSF receptor alpha-chain expression by cytokines: IL-3, IL-5, and GM-CSF down-regulate IL-5 receptor alpha expression with loss of IL-5 responsiveness, but up-regulate IL-3 receptor alpha expression. *J Immunol*. 2003;170(11):5359–66.

23. **McBrien CN, Menzies-Gow A.** The Biology of eosinophils and their role in asthma. *Front Med (Lausanne)*. 2017;4:93.
24. **Broughton SE, Dhagat U, Hercus TR, Nero TL, Grimbaldeston MA, Bonder CS, et al.** The GM-CSF/IL-3/IL-5 cytokine receptor family: from ligand recognition to initiation of signaling. *Immunol Rev*. 2012;250(1):277–302.
25. **Guthridge MA, Stomski FC, Thomas D, Woodcock JM, Bagley CJ, Berndt MC, et al.** Mechanism of activation of the GM-CSF, IL-3, and IL-5 family of receptors. *Stem Cells*. 1998;16(5):301–13.
26. **Venkatesan P.** 2023 GINA report for asthma. *Lancet Respir Med*. 2023;11(7):589.
27. **Schoettler N, Streck ME.** Recent advances in severe asthma: From Phenotypes to Personalized Medicine. *Chest*. 2020;157(3):516–28.
28. **Rogliani P, Calzetta L, Matera MG, Laitano R, Ritondo BL, Hanania NA, et al.** Severe asthma and biological therapy: when, which, and for whom. *Pulm Ther*. 2020;6(1):47–66.
29. **Desai D, Brightling C.** Cytokine and anti-cytokine therapy in asthma: ready for the clinic? *Clin Exp Immunol*. 2009;158(1):10–9.
30. **Busse WW, Chupp G, Corbridge T, Stach-Klysh A, Oppenheimer J.** Targeting asthma remission as the next therapeutic step toward improving disease control. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2024;12(4):894–903.
31. **Thomas D, McDonald VM, Pavord ID, Gibson PG.** Asthma remission: what is it and how can it be achieved? *Eur Respir J*. 2022;60(5).
32. **Oppenheimer J, Hoyte FCL, Phipatanakul W, Silver J, Howarth P, Lugogo NL.** Allergic and eosinophilic asthma in the era of biomarkers and biologics: similarities, differences and misconceptions. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2022;129(2):169–80.
33. **O'Dwyer DN, Moore BB.** The role of periostin in lung fibrosis and airway remodeling. *Cell Mol Life Sci*. 2017;74(23):4305–14.
34. **Lacy P, Rosenberg HF, Walsh GM.** Molecular biology of eosinophils: introduction. *Methods Mol Biol*. 2021;2241:1–14.
35. **Januskevicius A, Janulaityte I, Kalinauskaite-Zukauske V, Gosens R, Malakauskas K.** The Enhanced adhesion of eosinophils is associated with their prolonged viability and pro-proliferative effect in asthma. *J Clin Med*. 2019;8(9).
36. **Nakagome K, Nagata M.** Involvement and possible role of eosinophils in asthma exacerbation. *Front Immunol*. 2018;9:2220.
37. **Ronnow SR, Sand JMB, Staunstrup LM, Bahmer T, Wegmann M, Lunding L, et al.** A serological biomarker of type I collagen degradation is related to a more severe, high neutrophilic, obese asthma subtype. *Asthma Res Pract*. 2022;8(1):2.
38. **Koussih L, Atoui S, Tliba O, Gounni AS.** New insights on the role of pentraxin-3 in allergic asthma. *Front Allergy*. 2021;2:678023.
39. **Park GY, Lee YG, Berdyshev E, Nyenhuis S, Du J, Fu P, et al.** Autotaxin production of lysophosphatidic acid mediates allergic asthmatic inflammation. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;188(8):928–40.
40. **Most JF, Bork S.** New developments in asthma therapeutics. *Curr Opin Pharmacol*. 2020;51:59–65.
41. **Lin SC, Shi LS, Ye YL.** Advanced molecular knowledge of therapeutic drugs and natural products focusing on inflammatory cytokines in asthma. *Cells*. 2019;8(7).
42. **Krings JG, McGregor MC, Bacharier LB, Castro M.** Biologics for severe asthma: treatment-specific effects are important in choosing a specific agent. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2019;7(5):1379–92.
43. **Rimkunas A, Januskevicius A, Vasyle E, Palacionyte J, Janulaityte I, Miliauskas S, et al.** Blood inflammatory-like and lung resident-like eosinophils affect migration of airway smooth muscle cells and their ECM-related proliferation in asthma. *Int J Mol Sci*. 2023;24(4).
44. **Georas SN.** LPA and autotaxin: potential drug targets in asthma? *Cell Biochem Biophys*. 2021;79(3):445–8.
45. **Puzzovio PG, Levi-Schaffer F.** Latest progresses in allergic diseases biomarkers: asthma and atopic dermatitis. *Front Pharmacol*. 2021;12:747364.
46. **Liu D, Zhong M, Zhan D, Zhang Y, Liu S.** Roles of the HGF/Met signaling in head and neck squamous cell carcinoma: Focus on tumor immunity (Review). *Oncol Rep*. 2020;44(6):2337–44.
47. **Ito Y, Correll K, Zemans RL, Leslie CC, Murphy RC, Mason RJ.** Influenza induces IL-8 and GM-CSF secretion by human alveolar epithelial cells through HGF/c-Met and TGF- α /EGFR signaling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2015;308(11):L1178–88.
48. **Yamauchi Y, Ueki S, Konno Y, Ito W, Takeda M, Nakamura Y, et al.** The effect of hepatocyte growth factor on secretory functions in human eosinophils. *Cytokine*. 2016;88:45–50.
49. **Wilson TM, Maric I, Shukla J, Brown M, Santos C, Simakova O, et al.** IL-5 receptor alpha levels in patients with marked eosinophilia or mastocytosis. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;128(5):1086–92 e1–3.
50. **Zhang J, Shan L, Koussih L, Redhu NS, Halayko AJ, Chakir J, et al.** Pentraxin 3 (PTX3) expression in allergic asthmatic airways: role in airway smooth muscle migration and chemokine production. *PLoS One*. 2012;7(4):e34965.
51. **Habib N, Pasha MA, Tang DD.** Current understanding of asthma pathogenesis and biomarkers. *Cells*. 2022;11(17).
52. **Burgess JK, Mauad T, Tjin G, Karlsson JC, Westergren-Thorsson G.** The extracellular matrix - the under-recognized element in lung disease? *J Pathol*. 2016;240(4):397–409.
53. **Halwani R, Al-Muhsen S, Al-Jahdali H, Hamid Q.** Role of transforming growth factor-beta in airway remodeling in asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2011;44(2):127–33.
54. **Kalinauskaite-Zukauske V, Janulaityte I, Januskevicius A, Malakauskas K.** Serum levels of epithelial-derived mediators and interleukin-4/interleukin-13 signaling after bronchial challenge with *Dermatophagoides pteronyssinus* in patients with allergic asthma. *Scand J Immunol*. 2019;90(5):e12820.
55. **Pelaia C, Crimi C, Pelaia G, Nolasco S, Campisi R, Heffler E, et al.** Real-life evaluation of mepolizumab efficacy in patients with severe eosinophilic asthma, according to atopic trait and allergic phenotype. *Clin Exp Allergy*. 2020;50(7):780–8.
56. **Pelletier G, Godbout K, Boulay ME, Boulet LP, Morissette MC, Cote A.** Increase in FeNO levels following IL5/IL5R-targeting therapies in severe asthma: a case series. *J Asthma Allergy*. 2022;15:691–701.
57. **Pelaia G, Canonica GW, Matucci A, Paolini R, Triggiani M, Paggiaro P.** Targeted therapy in severe asthma today: focus on immunoglobulin E. *Drug Des Devel Ther*. 2017;11:1979–87.