

Kvėpavimo takų uždegimas sergant sunkia nealergine eozinofiline astma

AIRWAY INFLAMMATION IN SEVERE NON-ALLERGIC EOSINOPHILIC ASTHMA

VIRGINIJA KALINAUSKAITĖ-ŽUKAUSKĖ¹, IEVA JANULAITYTĖ², ANDRIUS JANUŠKEVIČIUS², KĘSTUTIS MALAKAUSKAS^{1,2}

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

Santrauka. Eozinofilinė astma yra atskiras ligos fenotipas, pasižymintis išreikštu eozinofiliniu kvėpavimo takų uždegimu. Sunki eozinofilinė astma paprastai yra nealerginės kilmės, komplikotos klinikinės eigos, jai būdinga vėlyva pradžia, dažni paūmėjimai, atsparumas gliukokortikoidams, nereti ir negalios atvejai. Todėl šiam astmos fenotipui skiriamas ypatingas dėmesys: viena iš galimų priežasčių – nepakankamai valdomas eozinofilinis uždegimas. Apžvalgoje pateikiami apibendrinti duomenys apie nealerginės kilmės kvėpavimo takų eozinofilinio uždegimo išsivystymo kelius, biologinių žymenų svarbą ir poreikį, naujausias gydymo galimybes.

Reikšminiai žodžiai: eozinofilas, eozinofilinis uždegimas, sunki nealerginė eozinofilinė astma, biologiniai žymenys.
Summary. Eosinophilic asthma is one of multiple phenotypes of asthma based on the eosinophil-rich inflammation in the airways. Severe eosinophilic asthma usually is non-allergic, associated with severe clinical course, late-onset disease, with frequent exacerbation and steroid refractoriness, not so rare with disability cases. Therefore, the focus on this asthma phenotype is not in vain: this may be related to insufficiently managed eosinophilic inflammation. The review provides generalized data on the mechanisms of airway non-allergic eosinophilic inflammation development, the importance of biological markers, the latest treatment options.

Key words: eosinophil, eosinophilic inflammation, severe non-allergic eosinophilic asthma, clinical biomarkers.

IVADAS

Astma yra lėtinė kvėpavimo takų uždegimo liga, pasižyminti skirtingais patofiziologiniais ligos išsivystymo mechanizmais ir su tuo susijusia skirtinga klinikine eiga bei prognoze. Pagal Europos respiratologų (angl. *European Respiratory Society*) ir Amerikos krūtinės draugijų (angl. *American Thoracic Society*) sutarimą, astma laikoma sunkia, jei nepavyksta pasiekti ligos simptomų kontrolės skiriant dideles įkvepiamųjų gliukokortikoidų (iGK) dozes kartu su kitu kontroliuojamuoju vaistu ir (arba) sisteminiais gliukokortikoidais (sGK) [1, 2]. Nors sunkia astma serga tik apie 5–10 proc. visų sergančiųjų astma, tačiau pastarųjų gydymui tenka ištis reikšminga medicininių išlaidų dalis dėl komplikotos ligos eigos, dažnų paūmėjimų, stacionarinio gydymo poreikio. Nukenčia sergančiojo socialinis gyvenimas, bendra su sveikata susijusi gyvenimo kokybė [1, 3, 4]. Pastarąjį dešimtmetį išskirtinis dėmesys skiriamas sunkiai eozinofilinei astmai ir jos patogenezei, nes šis astmos fenotipas kelia didžiausia rūpestį gydant ir siekiant kontroliuoti astmos simptomus, retinant ligos paūmėjimus [5]. Šioje apžvalgoje apibendrinami duomenys apie eozinofilų sukeltą kvėpavimo takų uždegimą sergant sunkia nealergine eozinofiline astma, biologinių žymenų panaudojimo galimybes klinikinėje praktikoje siekiant individualizuoti sergančiųjų gydymą.

EOZINOFILŲ STRUKTŪRA IR FUNKCIJOS

Sergant sunkia eozinofiline astma pagrindinis vaidmuo ligos patogenezėje tenka eozinofilams dėl žymiai padidėjusio jų kiekio kraujyje ir plaučių audinyje bei lėtinio uždegimo fone vykstančių struktūrinių kvėpavimo takų, plaučių audinio pokyčių [6].

Eozinofilai – tai cirkuliuojantys granulocitai, kurie kartu su kitomis baltosiomis kraujo ląstelėmis gaminami kaulų čiulpuose. Kad eozinofilas subręstų ir gebėtų atlikti savo funkcijas (ne visuomet palankias organizmui), turi įvykti daug biocheminių ir fiziologinių procesų. Šios imuninės ląstelės kaulų čiulpuose pradeda vystytis iš pluripotentinų CD34+ progenitorinių kamieninių ląstelių. Eozinofilų linijos besivystančias ląsteles veikia transkripcijos veiksniai. Vienas pagrindinių – GATA-3 [7]. Šis veiksnys skatina antrojo tipo T ląstelių pagalbininkų (Th2) citokinų gamybą, įskaitant interleukinus (IL), svarbius vystantis eozinofilams. Daugiausia GATA-3 išskiria Th2 ir mažesniu kiekiu antrojo tipo limfoidinės ląstelės (ILC2) [6, 8]. Tai pagrindinis Th2 ląstelių diferenciacijos reguliatorius, kuris kontroliuoja IL-4, IL-5 ir IL-13 raišką [6]. Ankstyvoje fazėje eozinofilai kaulų čiulpuose diferencijuojasi veikiant granulocitų-makrofagų kolonijas stimuliuojamajam veiksniai (GM-CSF), IL-3, IL-33, įtakos turi progenitorinių ląstelių ST2 receptorių raiška [9]; vėlesnėse fazėse – IL-5 [6, 8], kurio gamybai ir

receptorių IL-5Ra raiškai pirmtakų ląstelių paviršiuose svarbus IL-33 [9]. Tyrimų su pelėmis metu pastebėta, kad, stingant IL-33, IL-5, ST2 ir IL-5Ra receptorių, sutrikdoma eozinofilopoezė [9].

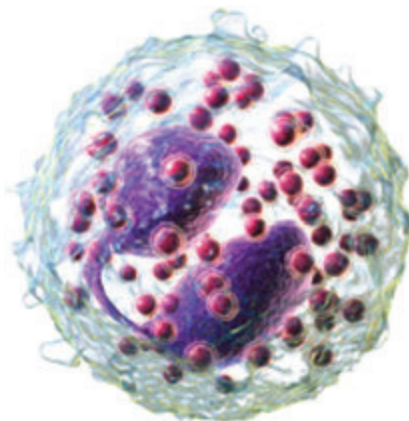
Eozinofilai prieš patekdami į kraujotaką, gamina ir kaupia antrines baltymines granules, svarbias tolesniam ląstelių išgyvenimui ir funkcionavimui. Galutinė diferencijacija įvyksta veikiant IL-5 [7]. Subrendę eozinofilai sudaro 1–3 proc. visų baltųjų kraujo ląstelių [3]. Pilnai subrendę eozinofilai yra 12–17 μm dydžio ląstelės, turinčios dviejų segmentų branduolius, dideles acidofilines citoplazmines granules, rodančias jų afinitetą rūgštims (1 pav.). Ląstelės citoplazmoje daug cheminių mediatorių, kurie išskiriami aktyvavus subrendusį eozinofilą ir vykstant jo degranuliacijai. Iš kaulų čiulpų į kraujotaką patekę eozinofilai gali išgyventi iki 8–12 val., tačiau galutinis jų migracijos taškas yra audiniai [10], kuriuose, nesant stimuliacijos, išlieka gyvybingi iki 8–12 dienų [11]. Normos atveju eozinofilų randama smegenyse, čiobrialiaukėje, apatinėje virškinamojo trakto dalyje, kiaušidėse, gimdoje, blužnyje ir limfmazgiuose, tačiau jų beveik nėra plaučiuose, odoje, stemplėje ir kai kuriuose kituose vidaus organuose [12]. Todėl eozinofilų kiekio padidėjimas, pvz., plaučių audinyje, yra neabejotinos ligos požymis ir aiškinama subrendusių eozinofilų migracija iš kraujotakos į uždegimines audinių zonas [6].

Eozinofilų migracija iš kraujotakos į audinius vyksta dalyvaujant endotelio sukibimo (adhezinėms) molekulėms: kraujagyslių ląstelių sukibimo molekulė ir jos ligandas-1 (VCAM-1) bei tarpląstelinė adhezijos molekulė ir jos ligandas-1 (ICAM-1), ir periostinui [6]. Eozinofilai skverbiasi iš kraujotakos į kvėpavimo takus ir juos infiltruoja. Šiame etape svarbūs antrojo tipo uždegimo citokinai – IL-4 ir IL-13, didinantys chemokinių-eozinofilų chemoatraktantų (įskaitant ir CCL11, CCL24, CCL26) gamybą. IL-4 ir IL-13 didina VCAM-1 raišką endotelio ląstelėse, o tai gerina eozinofilų sukibimą su endotelio ląstelėmis ir migraciją į kvėpavimo takus (per VCAM-1 ir integrinų α4 sąveiką) [13, 14].

Pagrindinį vaidmenį eozinofilai atlieka po aktyvacijos stimulu, kai įvyksta jų citolizė ir išskiriamos eozinofilinės granulės. Pastarosios atsakingos už ligando sukeltą eozinofilinių toksinų sekreciją bei sukelia struktūrinę ląstelių pažeidimą [6, 8]. Manoma, kad eozinofilų granulių raiška reguliuojama nekoduojančio RNR-EGOT geno (eozinofilo granulės ontogenezės transkripto genas, koduojantis ne baltymus, bet ilgąją nekoduojamą RNR molekulę) [15].

Po aktyvacijos eozinofilai geba atlikti šias pagrindines efektorines funkcijas [16–18]:

- Citotoksinių baltymų gamyba ir išskyrimas degranuliacijos metu: didysis pagrindinis baltymas, eozinofilų katijoninis baltymas, eozinofilų peroksidazė, eozinofilų išskiriamas neurotoksi-



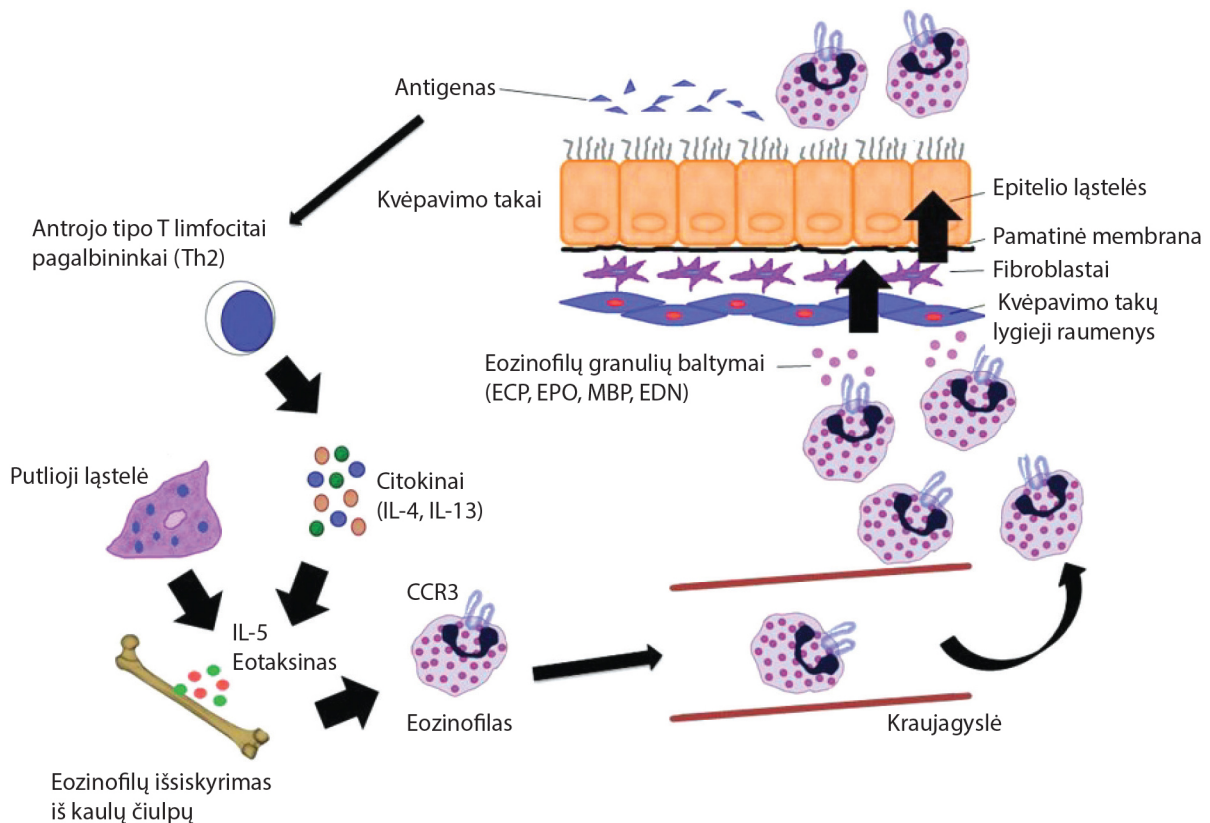
1 pav. Eozinofilo anatominė 3D struktūra (<http://leucocitos.org/eosinofilos/>)

nas. Didysis pagrindinis baltymas, eozinofilinė peroksidazė ir eozinofilinis katijoninis baltymas yra toksiški daugeliui audinių [18].

- Suformuojamos reaktyviosios deguonies formos: hipobromitas, superoksidai ir peroksidai (hipobrominė rūgštis, kurią iš esmės gamina eozinofilų peroksidazė).
- Sintetiniai lipidų tarpininkai (mediatoriai), pvz., eukozanoidai (leukotrienai, pvz., LTC₄, LTD₄, LTE₄; prostaglandinai, pvz., PGE₂).
- Gamina ir, prireikus, išskiria fermentus, pvz., elastazę.
- Išskiria augimo veiksnius, pvz., transformuojamąjį augimo veiksnį (TGF) beta, kraujagyslių endotelio veikimo veiksnį (VEGF) ir trombocitų kilmės augimo veiksnį (PDGF); citokinus, pvz., IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-13 ir naviko nekrozės veiksnį (angl. *Tumor Necrosis Factor*, TNF) alfa.

EOZINOFILŲ MIGRACIJOS Į KVĖPAVIMO TAKUS PRINCIPAI IR KLINIKINĖS PASEKMĖS

Kvėpavimo takuose eozinofilų kiekis paprastai pakinta dėl uždegimo ir suintensyvėjusios ląstelių migracijos, sąlygotos daugybės veiksnių, kurių pagrindiniai yra putliosios, T ir B ląstelės bei jų išskiriami citokinai (2 pav.). Sisteminiame kraujotakoje esantys eozinofilai į kvėpavimo takus geba patekti adhezijos ir migracijos keliu per bronchų kraujagyslių endotelį [10]. Eozinofilų migracija vyksta sąveikaujant jų paviršiuje esantiems integrinams (svarbiausi jų – α₄β₁, α_Mβ₂) su kraujagyslių endotelio ląstelių paviršiaus adhezijos receptoriais, tarp jų: P-selektinas, P-selektino glikoproteino ligandas-1 ir vėlyvo aktyvavimo antigeno/kraujagyslių ląstelių sukibimo molekulė, VCAM-1 ligandas. Nustatyta, kad VCAM-1 ir P-selektino raišką padidina IL-4 ir IL-13. Eozinofilų telkimasis kvėpavimo takuose kontroliuojamas chemokinių CCL5, 7, 11, 13, 15, 24 ir 26 bei jų receptorių CCR3, Th2 ląstelių



2 pav. Eozinofilų migracija iš sisteminės kraujotakos į kvėpavimo takus [22]

IL-4 – interleukinas 4, IL-5 – interleukinas 5, IL-13 – interleukinas 13, CCR3 – CC chemokinių receptoriai, Th2 – T ląstelės pagalbininkės 2; ECP (angl. *Eosinophil cationic protein*), EPO – eozinofilinė peroksidazė (angl. *Eosinophil Peroxidase*), MBP – didysis pagrindinis baltymas (angl. *Major Basic Protein*), EDN – iš eozinofilų kilęs neurotoksinas (angl. *Eosinophil Derived Neurotoxin*)

chemoatraktanto receptoriaus homologinių molekulių (CRTh2), prisijungiančių prostaglandiną D2 (PGD2). PGD2 veikia kaip eozinofilų chemoatraktantas, taip pat didina CCR3 chemokinių poveikį. Aktyvios putliosios ląstelės yra pagrindinis PGD2, išskiriamas tiek nuo IgE priklausomos, tiek nepriklausomos aktyvacijos metu, šaltinis [8]. Uždegimo metu eozinofilų kaupimąsi kvėpavimo takuose skatina ir kvėpavimo takų epitelio ląstelių, eozinofilų, fibroblastų išskiriamas periostinas [19]. Tai užląstelinio užpildo baltymas, kuriam jungiantis su eozinofilų $\alpha\text{M}\beta 2$ ir $\alpha 4\beta 1$ integriniais, skatinama eozinofilų adhezija ir telkimas kvėpavimo takuose [20, 21]. Aktyvuoti eozinofilai geba greitai reaguoti į stimulą ir mažiau nei per 1 val. išskirti imunomoduliuojamąsias medžiagas – daugiau kaip 35 rūšių citokinus, augimo veiksnius ir chemokinus [17].

Gausi audinių infiltracija aktyvuotais eozinofilais galiausiai sukelia struktūrinius bronchų pokyčius. Naujausi tyrimai rodo, kad migruodami eozinofilai gali tiesiogiai adhezijos būdu per išskiriamus integrinus prisitvirtinti prie bronchų lygiųjų raumenų ląstelių bei skatinti jas išskirti TGF- $\beta 1$, WNT-5a ligandą, užląstelinio užpildo baltymus – fibronektiną ir kolageną, skatinti bronchų lygiųjų raumenų ląstelių proliferaciją [22]. Tai sukelia kvėpavimo takų remodeliaciją. Tačiau šiuo metu eozinofilų prisijungimą prie bronchų ly-

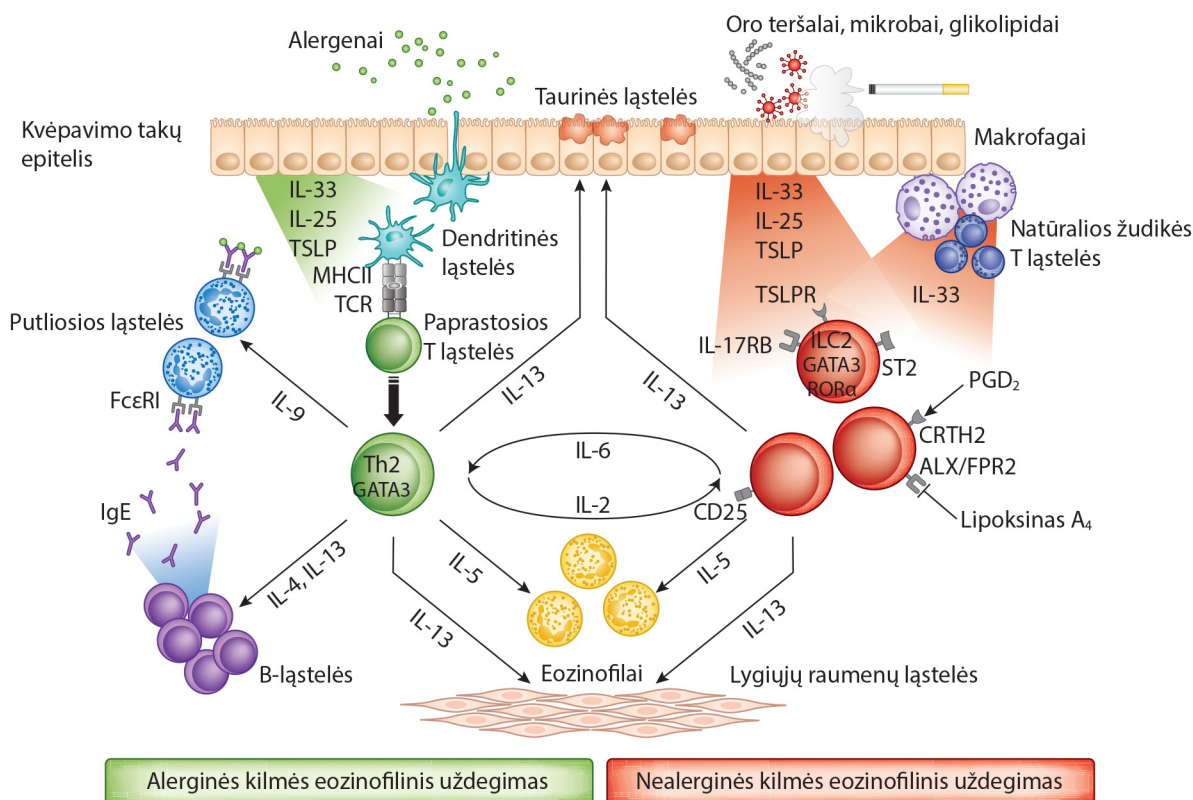
giųjų raumenų ląstelių paviršiaus molekulių ICAM-1 ir VCAM-1 pavyksta slopinti tik *in vitro* sąlygomis blokuojant eozinofilų integrinus, tokiu būdu kontroliuojant bronchų lygiųjų raumenų ląstelių proliferaciją [20]. Spėjama, kad sergančiųjų sunkia eozinofiline astma eozinofilai yra žymiai aktyvesni, lyginant su lengvesne astma sergančiųjų eozinofilais dėl labiau išreikštų paviršinių $\alpha 4\beta 1$ ir $\alpha\text{M}\beta 2$ integrinų bei didesnės TGF- $\beta 1$ gamybos, stabilesnės adhezijos bei didesnės TGF- $\beta 1$, WNT-5a, kolageno ir fibronektino genų raiškos bronchų lygiųjų raumenų ląstelėse [22].

Eozinofilų migraciją iš periferinio kraujo į kvėpavimo takus sudėtinga valdyti, taigi, lengviau kontroliuoti eozinofilų sukeltą vietinį uždegimą kvėpavimo takuose [22]. Vienas iš būdų – blokuoti eozinofilų kontaktą su bronchų lygiųjų raumenų ląstelėmis arba užląstelinio užpildo baltymais.

NEALERGINĖS KILMĖS EOZINOFILINIS UŽDEGIMAS SERGANT SUNKIA EOZINOFILINE ASTMA

Eozinofilinis uždegimas gali būti tiek alerginės, tiek nealerginės kilmės. Alerginės kilmės eozinofilinio uždegimo mechanizmai yra gana plačiai ištyrinėti, tačiau eozinofilinis uždegimas be atopijos ir jį sukeltys veiksniai nepakankamai ištyrinėti.

Moksliniai darbai ir apžvalgos



3 pav. Skirtingi eozinofilinio uždegimo patogenetiniai keliai sergant astma [34]

CRTH2 – chemoatraktanto receptoriaus homologinė molekulė, išreikšta Th2 ląstelėse; ALX / FPR2 – lipoksino A4 receptoriai; FcεRI – didelio afiniteto IgE receptoriai; GATA3 – GATA surišantis baltymas; PGD₂ – prostaglandinas D₂; RORα – su retino rūgštimi susiję receptoriai našlaičiai.

Eozinofilinės astmos metu kvėpavimo takuose dominuoja antrojo tipo uždegimas. Antrojo tipo uždegimui būdingas eozinofilų, putliųjų ląstelių, bazofilų, Th2 ląstelių, ILC2 ir IgE gaminančių B ląstelių kaupimasis. Pagrindiniai antrojo tipo uždegimo tarpininkai ir citokinai – IL-4, IL-5 ir IL-13 [24]. Eozinofilinio astmos fenotipo patogenezės pagrindas – išreikšta eozinofilija, kai kraujyje (ir arba) audiniuose randami dideli eozinofilų kiekiai. Kraujyje eozinofilija apibūdinama kaip šių ląstelių skaičiaus padidėjimas daugiau kaip $0,5 \times 10^9/l$, audiniuose – priklausomai nuo fiziologiškai randamo jų kiekio [25]. Sergant eozinofiline astma, plaučių audinyje randama daug eozinofilų, sukeliančių lėtinį uždegimą ir pažeidžiančių plaučių audinį, dėl to ligos eiga ir gydymas tampa komplikuoti. Pastebėtas eozinofilijos ryšys su astmos sunkumu [26].

Eozinofilinė astma įprastai yra vėlyvos pradžios, dažniausiai susijusi su lėtiniu rinosinusitu, nosies polipais, dažniausiai yra sunki ir nealerginės kilmės [27]. Šio fenotipo astma sergantiems asmenims, nepaisant skiriamo gydymo iGK, tiek kraujyje, tiek plaučių audinyje nuolat persistuoja eozinofilija, dažnas sGK poreikis dėl nepakankamai kontroliuojamų arba nekontroliuojamų ligos simptomų [2, 25, 27, 28].

Neseniai atliktame tyrime, kurio metu siekta išsiaiškinti nealerginės kilmės eozinofilinio kvėpavimo takų uždegimo mechanizmus, nustatyta, kad sergant lėtiniu rinosinusitu su išreikšta eozinofilija nosies polipuose aptiktas padidėjęs ILC2, pagrindinių nespecifinių įgimtų imuniteto efektorių, kiekis [29]. Po stimuliacijos užkrūčio liaukos stromos limfopoetinu (TSLP) ir IL-33, ILC2 ląstelės pradėjo gaminti su Th2 uždegimu susijusius citokinus, įskaitant didelius IL-5 ir IL-13 kiekius bei, kiek mažiau, IL-4 [30, 31]. Padidėjusi IL-5 gamyba iš dalies gali paaiškinti eozinofilinio uždegimo pasireiškimą sunkios nealerginės eozinofilinės astmos metu. Kadangi, sergant sunkia astma, kvėpavimo takuose padidėja epitelio citokino TSLP ir lipoksino A raiška, dėl to sumažėja ILC2 išskiriamas IL-13 kiekis, o nevaldoma ILC2 aktyvacija gali lemti refrakterinę eozinofiliją sergantiems sunkia nealergine astma [32]. Nustatyti ir genai, kurie siejami su ILC2 vystymusi ir aktyvacija: ILC2 diferenciacijai labai svarbus *ROR-1-a* koduojamasis genas, ir genai, kurie koduoja IL-33 bei IL-1 receptorių tipą 1, kuris yra IL-33 receptorių komplekso (dar vadinamo ST2) dalis, medijuojantys IL-33 signalinį kelią ir aktyvuojantys ILC2 [33].

Sergant astma, eozinofilinį kvėpavimo takų uždegimą sukeliančio IL-5 gamyba gali vykti dviem skirtingais ir

Moksliniai darbai ir apžvalgos

vienas nuo kito nepriklausomais patogenetiniiais keliais: alergeniui specifiniams paprastiesiems T limfocitams (angl. *naive-T cells*) virstant į Th2 ląsteles, gaminančias savo citokinų spektrą, arba nuo alergeno nepriklausomas įgimtų ILC2 ląstelių, gaminančių savo citokinus, kelias (3 pav.). Panaudojant eksperimentinį alerginės astmos modelį, nustatyta, kad pelėms, kurioms stinga IL-13, ILC2 ląstelės sukelia kvėpavimo takų hiperreaktyvumą, stebima eozinofilinė infiltracija. Pacientams, sergantiems astma, IL-13 ILC2 ląstelės gamina kaip atsaką į putliųjų ląstelių sekretuojamą PGD₂, todėl jo receptoriai gali būti slopinami tiek alerginės, tiek nealerginės astmos atvejais. Tačiau dar nepakankamai ištirta, ar ILC2 ląstelių kiekis kraujyje ir apatiniuose kvėpavimo takuose koreliuoja su specifiniais astmos fenotipais [34]. Terapiniu požiūriu įdomu išsiaiškinti, ar ILC2 ląstelės siejamos su refrakteriškumu GK, juo labiau – ar blokuojant/keičiant ILC2 patogenetinius kelius, receptorių raišką, išskiriamus citokinus, chemokinus, būtų galima pasiekti geresnių sunkios eozinofilinės nealerginės astmos gydymo rezultatų.

Eozinofilinį uždegimą, sergant astma, sukelia du skirtingi patogenetiniai keliai: alerginės astmos atveju dendritinės ląstelės pateikia antigeną CD4 + T ląstelėms, indukuoja Th2 ląsteles, kurios gamina IL-4, IL-5 ir IL-13, o tai sąlygoja antikūnų gamybos B ląstelėse perjungimą iš IgM/IgG į IgE, kvėpavimo takų eozinofiliją ir gleivinės hipersekreciją. Nealerginės eozinofilinės astmos atveju oro teršalai, mikrobai ir glikolipidai sukelia iš epitelio ląstelių kilusių citokinų, įskaitant IL-33, IL-25 ir TSLP, išskyrimą, kurie aktyvuoja ILC2 ląsteles nuo antigeno nepriklausomu būdu per atitinkamus savo receptorius (IL-17RB, ST2 ir TSLPR). Aktyvuotos ILC2 ląstelės gamina didelius IL-5 ir IL-13 kiekius, dėl to atsiranda eozinofilija, gleivinės hipersekrecija ir kvėpavimo takų hiperreaktyvumas.

Neigiamas eozinofilinio uždegimo pasekmės lemia ir ilgesnė eozinofilų išgyvenamumo trukmė dėl užtrukusios apoptozės, prailgėjusio eozinofilų toksinių mediatorių išskyrimo laiko. Normos atveju eozinofilus, įvykus programuotai jų žūčiai (apoptozei), pašalina makrofagai nesukeliant imuninio atsako. Esant uždelstai apoptozei, sudaromos palankios sąlygos persistuoti eozinofiliniam uždegimui ir šiame procese svarbią vietą užima IL-3, IL-5 bei GM-CSF [35].

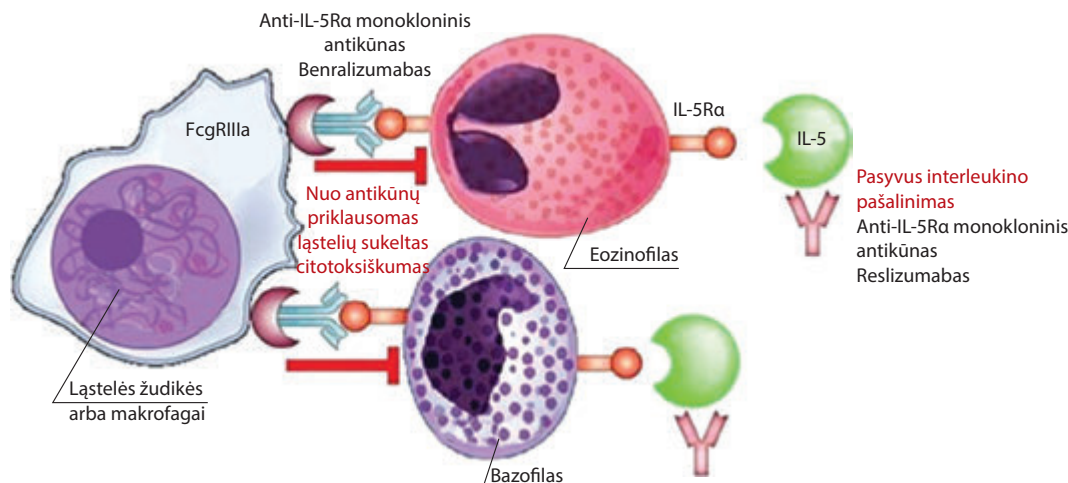
Įdomu ir tai, kad atliekant tyrimus su pelėmis, plaučių audinyje aptikta išskirtinai ilgiau gyvuojančių eozinofilų, kurių atliekamos funkcijos dar nepakankamai ištirtos, tačiau genų raiškos analizės duomenimis, jie pasižymi stipresnėmis reguliacinėmis savybėmis [36]. Šie eozinofilai priskiriami parenchiminėms ląstelėms, pasižyminčiomis Th2 imuninių atsaką slopinamosiomis savybėmis, kurioms IL-5 neturi tokio stipraus poveikio. Atlikus bronchų provokaciją su namų dulkių erkėmis, audinių eozinofilų savybės išliko nepakitusios [36].

Kalbant apie refrakteriškumą gydant GK sergančiuosius sunkia astma, labiausiai tikėtina priežastis – GK receptorių disfunkcija ir histono deacetilazės aktyvumo sumažėjimas [28]. Gydant GK, uždegimas slopinamas reguliuojant transkripcijos ir negenominius kelius. Reguluojant transkripciją, GK prisijungia prie GK receptorių (GK-R), o vėliau kompleksai susiejami su tiksulinio geno promotoriaus sritimi. Taip aktyvuojama arba nuslopinama genų transkripcija [37, 38]. Negenominis steroidų poveikis apima antrinius signalų nešiklius ir ne klasikinius receptorius [34]. Sergant sunkia astma, branduolyje yra sumažėjęs GK-R jungimosi afinitetas ir sutrikusi branduolio GK prisijungiančių GK-R translokacija [39], palyginti su GK jautria astma sergančiais. Norint sukelti GK-GK-R prisijungimo prie promotoriaus genų slopinimą, histonas turi būti acetilintas, o būtent atsparia GK astma sergantiesiems ir būna sutrikę ir žymiai silpnesni histono acetilinimo procesai [39]. Be to, šiems pacientams randama ir padidėjusi neprisijungiančių GK-R izoformų GRβ raiška, dėl to sumažėja steroidus prisijungiančių GK-Ra kiekis [39].

PATOGENEZĖS SKIRTUMŲ NULEMTI SUNKIOS EOZINOFILINĖS ASTMOS GYDYMO SAVITUMAI

Sergant sunkia astma, gydymo pagrindas yra 4–5 gydymo pakopų vaistai (vidutinė arba didelė iGK dozė kartu su ilgo veikimo β₂ agonistu be (arba su) ilgo veikimo muskarino receptorių blokatoriaus, su (arba be) leukotrienų receptorių blokatoriumi, pagal reikalą pridėdant sGK, anti-IgE arba anti-IL-5). Remiantis šiuo metu esamais tyrimų duomenimis, panašiausia, kad sergantiesiems sunkia, GK atsparia astma pastarosios patogenezėje pagrindinis vaidmuo tenka IL-5/IL-33 signaliniam keliui [28, 40]. Šiems pacientams veiksmingiausias gydymas anti-IL-5 vaistais, kurie blokuoja IL-5 signalinį kelią. Pastebėta, kad sergant šio fenotipo astma, anti-IL-5 vaistai (mepolizumabas, benralizumabas, reslizumabas) žymiai sumažina eozinofilų kiekį, astmos paūmėjimų skaičių, mažesnis geriamųjų GK poreikis, neprarandant astmos simptomų kontrolės [41–45].

Daugelis eozinofilų funkcijų valdomos IL-5. Stingant jo arba kitų aktyvių eozinofilinių citokinų, eozinofilai greitai apoptozuoja. Mepolizumabas ir reslizumabas yra IL-5 antagonistiskai veikiantys monokloniniai antikūnai, neutralizuojantys IL-5 ir neleidžiantys jungtis prie IL-5 receptorių, esančių ląstelių paviršiuje. Slopinamas IL-5 signalinis kelias ir IL-5 bioaktyvumas, mažinama eozinofilų gamyba kaulų čiulpuose ir jų išgyvenimas. Tuo tarpu benralizumabas jungiasi prie IL-5 receptoriaus α grandinės (IL-5Rα) ir blokuoja IL-5 prisijungimą. Minėti receptoriai randami subrendusių eozinofilų, eozinofilų linijos progenitorių ląstelių ir bazofilų paviršiuose (4 pav.).



4 pav. Vaistų, nukreiptų prieš IL-5, veikimo mechanizmų principai [41]

FcγRIIIa – fragmento imunoglobulino molekulėje, išskirto kristalizuojant mažo afiniteto receptorių IIIA; IL-5 – interleukinas 5; IL-5Ra – interleukino 5 receptorių α grandinė.

EOZINOFILINIO KVĖPAVIMO TAKŲ UŽDEGIMO BIOLOGINIAI ŽYMENYS

Atsižvelgiant į sunkios astmos heterogeniškumą, fenotipų gausą ir patogenezės savitumus, gebėjimas priskirti asmenį, sergantį sunkia astma „teisingam“ fenotipui yra lemiamas tikintis veiksmingo gydymo. Tam tikslui ieškoma biologinių žymenų. Idealus biologinis žymuo turėtų išlaikyti aiškų ryšį su ligos patogenezė, būti patikimas ir atkuriamas, kistų gydymo metu, būtų lengvai aptinkamas ir kiekybiškai įvertinamas, nebrangus ir pasižymėtų dideliu jautrumu bei specifiškumu [46, 47].

Šiuo metu klinikinėje praktikoje naudojami eozinofilinio uždegimo biologiniai žymenys yra periferinio kraujo eozinofilų kiekis, periostino koncentracija serume ir azoto oksido frakcija iškvėpiamame ore (FeNO). Remiantis naujausiais tyrimais, minėtus eozinofilinio uždegimo žymenis kombinuojant su serumo eotaksinų CCL26, CCL17, CCL24 koncentracijomis, sergančiuosius astma būtų galima skirstyti į aukšto ir žemo eozinofilinio uždegimo lygmens fenotipus [48], o tai leistų geriau prognozuoti astmos eigą ir baigtis, gydymo veiksmingumą.

Pagrindiniai eozinofilinio kvėpavimo takų uždegimo biologiniai žymenys:

- Eozinofilų skaičius periferiniame kraujyje:
 - eozinofilų išskiriami prouždegiminiai mediatoriai yra pagrindiniai veiksniai, palaukiantys kvėpavimo takų uždegimą sergant astma, sukeltantys kvėpavimo takų epitelio pažeidimą, cholinerginių receptorių funkcijos sutrikimą, kvėpavimo takų hiperreaktyvumą, padidėjusią gleivių sekreciją, kvėpavimo takų struktūrinius pokyčius.
- Periostino koncentracija:
 - periostinas yra užląstelinio užpildo baltymas,

išskirtas iš epitelinių ląstelių kaip atsakas į įvairius stimulus, įskaitant IL-13, ir jo nustatomas kiekis stipriai koreliuoja su antrojo tipo uždegimu. Periostinas taip pat susijęs su daugeliu uždegiminių procesų sergant astma, pvz., eozinofilų telkimasis plaučiuose, kvėpavimo takų struktūriniai pokyčiai (proliferacinis poveikis). Esant didesnei periostino koncentracijai, būna didesnė ir uždegiminių mediatorių raiška.

- IL-13 koncentracija serume:
 - svarbiausias citokinas, analizuojant antrojo tipo uždegimą, yra IL-13, kuris dideliais kiekiais gaminamas ILC2 ir Th2 ląstelių bei dalyvauja reguliuojant IgE gamybą, padidėjusią gleivių gamybą, eozinofilų telkimąsi plaučiuose, bronchų hiperreaktyvumą, adhezinių molekulių raišką, chemokinus (pvz., eotaksinus). Pernelyg padidėjusi IL-13 raiška sukelia eozinofiliją, gleivių hiperprodukciją ir bronchų hiperreaktyvumą.
- CCL11 koncentracija kraujo serume:
 - CCL11 yra citokinas, kuris priklauso CC chemokininų šeimai, dar vadinamas eotaksinu-1. Tai vienas iš trijų pagrindinių eozinofilų chemotaksį didinančių baltymų. Veikia per eozinofilų paviršiuje esančius chemokininų receptorių CCR3 ir skatina eozinofilų telkimąsi plaučiuose.
- CCL17 koncentracija kraujo serume:
 - CCL17 yra citokinas, priklausantis CC chemokininų šeimai, kurio gamybą skatina IL-13. CCL17 nerandama sveikų asmenų kraujyje, tačiau didesni kiekiai nustatomi sergant astma. Padidėjusi CCL17 raiška, kartu esant padidėjusiam kraujo eozinofilų kiekiui arba

Moksliniai darbai ir apžvalgos

FeNO, didina prognostinę vertę, nustatant dominuojantį antrojo tipo uždegimą.

- Eotaksino CCL26 koncentracija serume:
 - eotaksinas-3 arba chemokino (C-C) motyvo ligandas 26 (CCL26) yra mažos molekulinės masės citokinas, priklausantis CC chemokinių šeimai. Eotaksiną, esant IL-4 simuliacijai, gamina įvairių organų audiniai: plaučių, širdies ir kiaušidžių bei endotelinės ląstelės. CCL26 yra eozinofilų chemoatraktantas, veikiantis per ląstelių paviršiuje esančius chemokinių receptorių CCR3 ir skatinantis eozinofilų telkimą kvėpavimo takuose.
- eotaksino CCL24, dar vadinamo eozinofilų chemotaksiniu baltymu-2 arba eotaksinu-2, koncentracija serume:
 - tai chemokino (C-C) motyvo ligandas 24, taip pat priklausantis CC chemokinių šeimai. Yra vienas stipriausių eozinofilų chemoatraktantų, veikiantis per ląstelių paviršiuje esančius chemokinių receptorių CCR3 ir skatinantis eozinofilų telkimą kvėpavimo takuose. Eotaksinas-2 lengvina eozinofilų migraciją. Padidėjęs šio chemokino koncentracijai, pastebėtas greitesnis eozinofilų adhezijos kelias per ICAM-1 adhezines molekules [49].

APIBENDRINIMAS

Ilgus metus astmos patogenezė aiškinta dominuojančiu Th2 sukkelto alerginio uždegimo pobūdžiu. Pastaraisiais metais nustatyta, kad svarbų vaidmenį vaidina nealerginiu keliu aktyvuojami eozinofilai, kai ILC2 išskiria didelį kiekį IL-5. Eozinofilijos svarbą ligos simptomų pasireiškimui, eigai, atsakui į skiriamą gydymą šiuo metu geriausiai apibūdina sunkios eozinofilinės astmos fenotipas. Sunkios eozinofilinės astmos metu randami ženklesni struktūriniai kvėpavimo takų pokyčiai, būdinga sunki ligos eiga, nepalanki prognozė. Situaciją iš esmės keičia klinikiniais tyrimais įrodytas veiksmingas gydymas monokloniniais antikūnais prieš IL-5 – mepolizumabu, benralizumabu, reslizumabu. Svarbi tolesnių tyrinėjimų sritis – skirtinga pačių eozinofilų receptorių raiška, turinti įtakos eozinofilų brendimui, diferenciacijai, migracijai. Kraujo eozinofilų skaičius, periostino koncentracija serume ir FeNO – tai biologiniai žymenys, rodantys kvėpavimo takų eozinofilinio uždegimo intensyvumą. Tyrinėjami ir kiti, galimai jautresni, biologiniai žymenys, pvz., IL-13, CCL11, CCL17, CCL24, CCL26, kurie padėtų tiksliau identifikuoti sergančiuosius astma su išreikštu eozinofiliniu kvėpavimo takų uždegimu, prognozuoti gydymo biologiniais vaistais veiksmingumą.

Gauta 2018 03 12

Priimta 2018 04 06

LITERATŪRA

1. Chung KF, Wenzel SE, Brozek JL, Bush A, Castro M, Sterk PJ, et al. International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation, and treatment of severe asthma, 2013. Available from: <https://www.thoracic.org/statements/resources/allergy-asthma/severe-asthma-full.pdf>
2. Biekšienė K, Malakauskas K, red., Danila E, Zablockis R, Blažienė A, Miliauskas S, ir kt. Lietuvos suaugusiųjų sunkios astmos diagnostikos ir gydymo rekomendacijos 2017. Pulmonologija ir alergologija. 2017; 1(1):8-16.
3. Buhl R, Humbert M, Bjermer L, Chanez P, Heaney LG, Pavord I, et al. Severe eosinophilic asthma: a roadmap to consensus. Eur Respir J. 2017; 49(5). pii: 1700634.
4. Raundhal M, Morse C, Khare A, Oriss TB, Milosevic J, Trudeau J, et al. High IFN- γ and low SLPI mark severe asthma in mice and humans. J Clin Invest. 2015; 125(8):3037-50.
5. Price DB, Rigazio A, Campbell JD, Bleecker ER, Corrigan CJ, Thomas M, et al. Blood eosinophil count and prospective annual asthma disease burden: a UJ cohort study. Lancet Respir Med. 2015; 3(11): 849-58.
6. Lambrecht BN, Hammad H. The immunology of asthma. Nat Immunol. 2015; 16 (1):45-56.
7. Uhm TG, Kim BS. Eosinophil development, regulation of eosinophil-specific genes, and role of eosinophils in the pathogenesis of asthma. Allergy Asthma Immunol Res. 2012; 4(2):68-79.
8. George L, Brightling ChE. Eosinophilic airway inflammation: role in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. Ther Adv Chronic Dis. 2016; 7(1):34-51.
9. Johnston LK, Hsu CL, Krier-Burris RA, Chhiba KD, Chien KB, McKenzie A, et al. IL-33 Precedes IL-5 in Regulating Eosinophil Commitment and Is Required for Eosinophil Homeostasis. J Immunol. 2016; 197(9):3445-53.
10. Rosenberg H, Phipps S, Foster P. Eosinophil trafficking in allergy and asthma. J Allergy Clin Immunol. 2007; 119(6):1303-10.
11. Young B, Lowe JS, Stevens A, Heath JW. Wheater's functional histology: A text and colour atlas. 5th ed. Philadelphia [Pa.]: Churchill Livingstone/Elsevier; 2006.
12. Zhang H, Verkman AS. Eosinophil pathogenicity mechanisms and therapeutics in neuromyelitis optica. J Clin Invest. 2013; 123(5):2306-16.
13. Doran E, Cai F, Holweg CTJ, Wong K, Brumm J, Arron JR. Interleukin-13 in Asthma and Other Disorders. Front Med (Lausanne). 2017; 4:139. Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2017.00139/full>
14. Wagner LA, Christensen CJ, Dunn DM, Spangrude GJ, Georgelas A, Kelley L, et al. EGO, a novel, noncoding RNA gene, regulates eosinophil granule protein transcript expression. Blood. 2007; 109(12):5191-8.
15. Rothenberg M, Hogan S. The eosinophil. Annu Rev Immunol. 2006; 24(1):147-74.
16. Davoine E, Lacy P. Eosinophil cytokines, chemokines, and growth factors: emerging roles in immunity. Front Immunol. 2014; 5:570.
17. Rosenberg HF, Dyer KD, Foster PS. Eosinophils: changing perspectives in health and disease. Nat Rev Immunol. 2013; 13(1):9-22.
18. Tartibi HM, Bahna SL. Clinical and biological markers of asthma control. Expert Rev Clin Immunol. 2014; 10(11):1453-61.
19. Izuhara K, Arima K, Ohta S, Suzuki S, Inamitsu M, Yamamoto K. Periostin in allergic inflammation. Allergol Int. 2014; 63(2):143-51.
20. Conway SJ, Izuhara K, Kudo Y, Litvin J, Markwald R, Ouyang G, et al. The role of periostin in tissue remodeling across health and disease. Cell Mol Life Sci. 2014; 71(7):1279-88.
21. Januskevicius A, Gosens R, Sakalauskas R, Vaitkiene S, Janulaityte I, Halayko AJ, et al. Suppression of Eosinophil Integrins Prevents Remodeling of Airway Smooth Muscle in Asthma. Front Physiol. 2017; 7:680.
22. Possa SS, Leick EA, Prado CM, Martins MA, Tibério IF. Eosinophilic inflammation in allergic asthma. Front Pharmacol. 2013; 4:46.
23. Steinke JW, Borish L. Th2 cytokines and asthma — Interleukin-4: its role in the pathogenesis of asthma, and targeting it

- for asthma treatment with interleukin-4 receptor antagonists. *Respir Res.* 2001; 2(2):66–70.
24. **Dunican EM, Fahy JV.** The Role of Type 2 Inflammation in the Pathogenesis of Asthma Exacerbations. *Ann Am Thorac Soc.* 2015; 12(2):S144–9.
 25. **Walford HH, Doherty TA.** Diagnosis and management of eosinophilic asthma: a US perspective. *J Asthma Allergy.* 2014; 7:53–65.
 26. **Wenzel SE.** Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches. *Nat Med.* 2012; 18(5):716–25.
 27. **Koczulla AR, Vogelmeier CF, Garn H, Renz H.** New concepts in asthma: clinical phenotypes and pathophysiological mechanisms. *Drug Discov Today.* 2017; 22(2):388–96.
 28. **Poon AH, Eidelman DH, Martin JG, Laprise C, Hamid Q.** Pathogenesis of severe asthma. *Clin Exp Allergy.* 2012; 42(5):625–37.
 29. **Mjösberg JM, Trifari S, Crellin NK, Peters CP, van Drunen CM, Piet B, et al.** Human IL-25- and IL-33-responsive type 2 innate lymphoid cells are defined by expression of CCR2 and CD161. *Nat Immunol.* 2011; 12(11):1055–62.
 30. **Walker JA, Barlow JL, McKenzie AN.** Innate lymphoid cells—how did we miss them? *Nat Rev Immunol.* 2013; 13(2):75–87.
 31. **Spits H, Artis D, Colonna M, Dieffenbach A, Di Santo JP, Eberl G, et al.** Innate lymphoid cells—a proposal for uniform nomenclature. *Nat Rev Immunol.* 2013; 13(2):145–9.
 32. **Barnig C, Cernadas M, Dutile S, Liu X, Perrella MA, Kazani S, et al.** Lipoxin A4 regulates natural killer cell and type 2 innate lymphoid cell activation in asthma. *Sci Transl Med.* 2013; 5(174):174ra26.
 33. **Moffatt MF, Gut IG, Demenais F, Strachan DP, Bouzigon E, Heath S, et al.** A large-scale, consortium-based genome-wide association study of asthma. *N Engl J Med.* 2010; 363(13):1211–21.
 34. **Brusselle GG, Maes T, Bracke KR.** Eosinophilic airway inflammation in nonallergic asthma. *Nat Med.* 2013; 19(8):977–9.
 35. **Kankaanranta H, Lindsay MA, Giembycz MA, Zhang X, Moilanen E, Barnes PJ.** Delayed eosinophil apoptosis in asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2000; 106(1 Pt 1):77–83.
 36. **Mesnil C, Raulier S, Paulissen G, Xiao X, Birrell MA, Pirotton D, et al.** Lung-resident eosinophils represent a distinct regulatory eosinophil subset. *J Clin Invest.* 2016; 126(9):3279–95.
 37. **Holgate ST, Polosa R.** Treatment strategies for allergy and asthma. *Nat Rev Immunol.* 2008; 8(2):218–30.
 38. **Barnes PJ.** Mechanisms and resistance in glucocorticoid control of inflammation. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2010; 120(2–3):76–85.
 39. **Matthews JG, Ito K, Barnes PJ, Adcock IM.** Defective glucocorticoid receptor nuclear translocation and altered histone acetylation patterns in glucocorticoid-resistant patients. *J Allergy Clin Immunol.* 2004; 113(6):1100–8.
 40. **Barlow JL, Peel S, Fox J, Panova V, Hardman CS, Camelo A, et al.** IL-33 is more potent than IL-25 in provoking IL-13-producing nuocytes (type 2 innate lymphoid cells) and airway contraction. *J Allergy Clin Immunol.* 2013; 132(4):933–41.
 41. **Tan LD, Bratt JM, Godor D, Louie S, Kenyon NJ.** Benralizumab: a unique IL-5 inhibitor for severe asthma. *J Asthma Allergy.* 2016; 9:71–81.
 42. **Nair P, Pizzichini MM, Kjarsgaard M, Inman MD, Efthimiadis A, Pizzichini E, et al.** Mepolizumab for prednisone-dependent asthma with sputum eosinophilia. *N Engl J Med.* 2009; 360(10):985–93.
 43. **Haldar P, Brightling CE, Hargadon B, Gupta S, Monteiro W, Sousa A, et al.** Mepolizumab and exacerbations of refractory eosinophilic asthma. *N Engl J Med.* 2009; 360(10):973–84.
 44. **Castro M, Wenzel SE, Bleeker ER, Pizzichini E, Kuna P, Busse WW, et al.** Benralizumab, an anti-interleukin 5 receptor α monoclonal antibody, versus placebo for uncontrolled eosinophilic asthma: a phase 2b randomised dose-ranging study. *Lancet Respir Med.* 2014; 2(11):879–90.
 45. **Castro M, Zangrilli J, Wechsler ME, Bateman ED, Brusselle GG, Bardin P, et al.** Reslizumab for inadequately controlled asthma with elevated blood eosinophil counts: results from two multicentre, parallel, double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trials. *Lancet Respir Med.* 2015; 3(5):355–66.
 46. **Yancey SW, Keene ON, Albers FC, Ortega H, Bates S, Bleeker ER, et al.** Biomarkers for severe eosinophilic asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2017; 140(6):1509–18.
 47. **Poon AH, Hamid Q.** Severe asthma: have we made progress? *Ann Am Thorac Soc.* 2016; 13(1):S68–77.
 48. **Silkoff PE, Laviolette M, Singh D, FitzGerald JM, Kelsen S, Backer V, et al.** Identification of airway mucosal type 2 inflammation by using clinical biomarkers in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol.* 2017; 140(3):710–19.
 49. **Tachimoto H, Kikuchi M, Hudson SA, Bickel CA, Hamilton RG, Bochner BS.** Eotaxin-2 alters eosinophil integrin function via mitogen-activated protein kinases. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2002; 26(6):645–9.