

# Nauji astmos patogenezės aspektai

Virginija Kalinauskaitė, Kęstutis Malakauskas

LSMU MA Pulmonologijos ir imunologijos klinika

**Reikšminiai žodžiai:** astma, eozinofilai, bronchų lygieji raumenys, remodeliavimasis, WNT-5A.

**Santrauka.** Astma yra lėtinė apatinių kvėpavimo takų uždegimo liga, kuriai būdinga praeinanti bronchų obstrukcija, bronchų hiperreaktyvumas; vyrauja uždegimo ląstelės ir jų išskiriami mediatoriai, struktūriniai bronchų pokyčiai (remodeliavimasis). Bronchų lygiųjų raumenų ląstelės aktyviai dalyvauja bronchų remodeliavimosi procese išskirdamos prouždegimo citokinus, chemokinus ir tarpląstelinės medžiagos baltymus. Eozinofilai, vienos pagrindinių uždegimo ląstelių, yra svarbūs vykstant bronchų remodeliavimuisi. Eozinofilai, išskirdami cisteinil-leukotrienus, skatina bronchų lygiųjų raumenų proliferaciją. Manoma, kad eozinofilai bronchų lygiųjų raumenų ląsteles veikia ir tiesiogiai adhezijos būdu. Duomenys rodo, kad naujas Wingless baltymo/integrazės-1 (WNT) signalų tarp ląstelių perdavimo kelias taip pat gali būti svarbus astmos patogenezėje ir bronchų remodeliavimosi procesuose. Nustatyta, kad, sergant astma, būna padidėjusi WNT-5a ligando raiška. Deja, eozinofilų poveikis WNT sekrecijai bronchų lygiųjų raumenų ląstelėse kol kas nėra gerai ištirtas. Nepaisant plačiai pripažįstamos eozinofilų reikšmės astmos patogenezėje, eozinofilų sukeltas bronchų lygiųjų raumenų remodeliavimosi mechanizmas nėra išsiaiškintas.

Epidemiologiniai tyrimai rodo, kad pastaraisiais dešimtmečiais ženkliai išaugo ir vaikų, ir suaugusiųjų sergamumas astma. Statistikos duomenimis, visame pasaulyje astma serga apie 300 mln. žmonių, o kai kuriose šalyse – net iki 18 proc. gyventojų [1]. Vien Europoje su astma susijusios išlaidos (tiek tiesioginės, tiek netiesioginės) sudaro apie 17,7 mln. eurų.

Vienas pagrindinių astmos gydymo tikslų – simptomų kontrolė. Šiam tikslui pasiekti dažniausiai skiriamas uždegimą slopinantis gydymas inhaliuojamaisiais gliukokortikoidais ir bronchus plečiančiais vaistais. Tačiau astma turi daug fenotipų ir skiriasi uždegimo tipu, atsaku į gydymą [2, 3]. Nors atlikta nemažai tyrimų, vis dėlto astmos patogenezė nėra iki galo aiški. Neabejojama, kad vystantis astmai labai svarbią vietą užima kvėpavimo takų struktūros pokyčiai, t. y. jų remodeliavimasis. Pastaruoju metu diskutuojama apie eozinofilų poveikį bronchų lygiųjų raumenų ląstelėms ir jo sąlygojamą bronchų lygiųjų raumenų hiperplaziją, hipertrofią, pakitusias kontraktines savybes [4]. Bronchų lygiųjų raumenų proliferaciją skatina Th2 ląstelės, tačiau ir pačios bronchų lygiųjų raumenų ląstelės gali būti uždegimo mediatorių bei citokinų, ypač chemokinų, šaltinis ir prisidėti prie astmos patofiziologijos mechanizmų [4–6]. Duomenys apie naują Wingless baltymo/integrazės-1 (WNT) signalų tarp ląstelių perdavimo kelią ir WNT

reikšmę astmos patogenezėje kelia didelį susidomėjimą. Pastaraisiais metais tam, kad būtų įrodyta nauja astmos patogenezės grandis, pasaulyje plačiai naudojamos ląstelių kultūrų metodikos.

## ASTMOS ETIOLOGIJA, FENOTIPAI, GYDYMO PRINCIPAI

Astma – kvėpavimo takų uždegimo liga, patofiziologiškai pasireiškianti neinfekciniu uždegimu, struktūriniais, funkciniais bronchų pokyčiais, sukeliančiais nespecifinį bronchų hiperreaktyvumą bei praeinančią bronchų obstrukciją, o kliniškai – būdingais simptomais: kosuliu, švokštimu krūtinėje, dusulio epizodais. Astmos atsiradimą, kaip ir epizodinius ligos paūmėjimus, gali provokuoti daugybė įvairių genetinių ir aplinkos veiksnių, dažniausiai virusinės infekcijos, alergenai, fizinė veikla, šaltas oras (1 pav.). Dėl skirtingos kvėpavimo takų ląstelių ir astmą provokuojančių ar ligą sukeliančių veiksnių tarpusavio sąveikos formuojami skirtingi astmos fenotipai. Kadangi genitinių ir aplinkos veiksnių sąveikos rezultatai nėra aiškūs, sunku sukurti logiškai tikslų astmos tyrimo modelį.

Norint gerinti astma sergančių asmenų medicininę priežiūrą, sukurtos ir nuolat papildomos tarptautinės bei nacionalinės astmos diagnostikos, pacientų priežiūros ir gydymo gairės [1]. Astmos diagnozė grindžiama esamais ar anamnezės simptomais, plaučių funk-

cijos rodikliais (atliekant spiogramą), esant reikalui – bronchų, tam tikrais atvejais fizinio krūvio provokacinių mėginių rezultatais. Papildomos informacijos suteikia ir iškvėpamo azoto oksido koncentracijos, granulocitų skaičiaus indukuotuose skrepliuose nustatymas.

Astma gali svyruoti nuo lengvos iki sunkios, gali būti epizodinė (intermituojanti) arba nuolatinė (persistuojanti). Kol kas nėra aiškiai apibrėžto ar specifiniais patomorfologiniais žymenimis paremto astmos skirstymo į fenotipus, kas sukurtų pagrindą pacientui skirti efektyviausią individualų gydymą. Nustatyta, kad azoto oksido koncentracijos iškvėpiamame ore ir eozinofilų skaičiaus skrepliuose matavimas yra vertingas predikcinis rodiklis prognozuojant atsaką į gydymą gliukokortikoidais [7]. Bandytas skirstyti astmą pagal Th2 ląstelių kiekį kraujyje gali būti naudingas vertinant galimą gydymo anti IL-13 vaistu naudą [5, 8]. Remiantis klinikiniais astmos požymiais, atlikta klasterine astma sergančių pacientų, gydytų pirminės bei antrinės asmens sveikatos priežiūros įstaigose, analize. Astma pagal simptomus ir eozinofilinį uždegimo komponentą gali būti skiriama į penkis fenotipus: ankstyva atopinė astma, palankios eigos astma, nutukusiųjų neeozinofilinė astma, astma su vyraujančiu uždegimu, astma su vyraujančiais ankstyvais simptomais [2, 9]. Pagal granulocitų raišką indukuotuose skrepliuose astma gali būti skiriama į

eozinofilinę, neutrofilinę ir mišrią granulocitinę arba paucigranulocitinę astmą (kai nustatomas normalus eozinofilų ir neutrofilų kiekis); pagal atsaką į vartojamus vaistus – pavyzdžiui, į atsparią gydymui gliukokortikoidais, aspirininę. Yra ir daugiau nepaminėtų astmos fenotipų.

GINA (angl. *The Global Initiative for Asthma, Globalinė astmos gydymo ir profilaktikos strategija*) paskelbtos astmos gydymo rekomendacijos remiasi simptomų kontrole. Pagrindiniai astmai gydyti skiriami vaistai turi mažinti bronchų uždegimą (gliukokortikoidai) ir kliniškai lengvinti bronchų obstrukcijos sukeltus simptomus (beta 2 agonistai). Klinikiniuose tyrimuose įrodyta, kad inhaliuojamųjų gliukokortikoidų ir ilgai veikiančių beta 2 agonistų deriniai yra naudingesni nei tik inhaliuojamasis gliukokortikoidas. Leukotrienų modifikatoriai, kaip antai cisteinilleukotrieno 1 (CysLT1) receptorių antagonistai (montelukastas, zafirlukastas) ir 5-lipoksigenazės inhibitorius (zileutonas), taip pat gali būti skiriami astmai kontroliuoti. Dėl silpnesnio gydomojo poveikio, lyginant su mažomis inhaliuojamųjų gliukokortikoidų dozėmis, leukotrienų modifikatoriai dažniausiai skiriami kartu su gliukokortikoidais. Trumpai veikiantis teofilinas gali būti rezervinis bronchus plečiantis vaistas ir kontroliuojamasis vaistas, tačiau dėl jo skyrimo esant astmos paūmėjimui nuomonės prieštaringos. Pacientams, kuriems nepavyksta kontroliuoti astmos nepaisant vartojamų didelių gliukokortikoidų dozių, gali būti veiksmingas gydymas anti IgE vaistu (omalizumabu). Nepaisant turimo astmos gydymo, vis dar reikia naujų vaistų, ypač pacientams, sergantiems sunkia ar nekontroliuojama astma. Taigi naujų astmos gydymo taikinių nustatymas leistų sukurti ir naujus patogeneziniškai veikiančius vaistus. Daugėja astmos patogenezės tyrimų. Šiuo tikslu naudojami įvairūs astmos modeliai: nuo labai paprastų, žmogaus ląstelių mono- ar kombinuotų kultūrų, iki *in vivo* tyrimų su savanoriais. Deja, gyvūnų modeliai ne visuomet sutampa su žmogaus organizme vykstančiais procesais, todėl pastaraisiais metais pradėtos taikyti ir žmogaus ląstelių kultūrų metodikos.

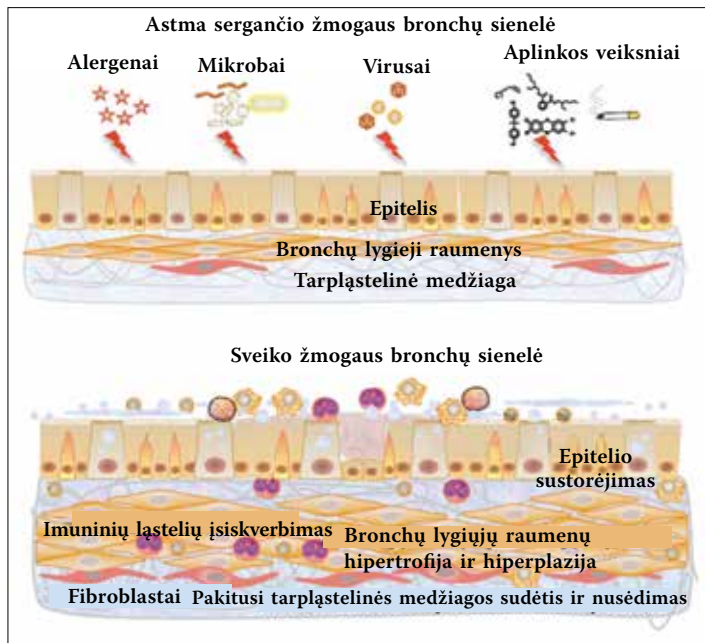
## ASTMOS PATOGENEZĖ

Astmai būdingas bronchų uždegimas ir struktūros pokyčiai. Struktūriniai bronchų pokyčiai pasireiškia epitelio sustorėjimu, taurinių ląstelių metaplazija, hiperplazija, vystosi poepitelinė fibrozė, bronchų sienelę infiltruoja imuninės ląstelės, keičiasi tarpląstelinės medžiagos sudėtis, padidėja kolageno kaupimasis bronchų sienelėse, proliferuoja bronchų lygieji raumenys, aktyvėja angiogenezė [10, 11] (1 pav.). Kas yra tiesiogiai atsakingi už šiuos pokyčius, nėra gerai iširta. Astmos patogenezė sudėtinga, nes jai įtakos turi tiek genetiniai, tiek aplinkos veiksniai. Ilgą laiką buvo manoma, kad astma yra sąlygojama bronchų uždegimo, išprovokuoto aplinkos alergeno. Tačiau, epidemiologinių tyrimų duomenimis, stiprios ekonomikos šalyse iš 40 proc. gyventojų, turinčių atopiją, tik 7 proc. serga astma [12]. Šie duomenys leidžia manyti, kad be atopijos yra ir kitų mechanizmų, lemiančių astmos išsivystymą. Neutrofilų įtaka kvėpavimo takų uždegimui vystytis sergant alergine astma yra vienas dažniausiai tyrinėjamų objektų, tačiau vis dar iki galo neiširta [5, 9, 13–15]. Neabejojama, kad bronchų struktūros pokyčiai yra susiję su eozinofiliniu uždegimu [16, 17].

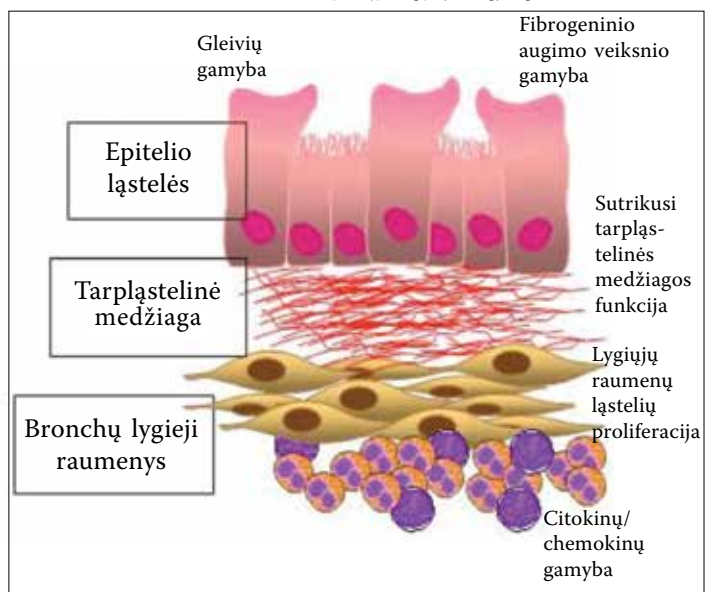
Bronchų epitelis apsaugo apatinius kvėpavimo takus nuo įkvėpiamųjų aplinkos veiksnių, todėl vaidina svarbų vaidmenį astmos patogenezėje. Apsauginės bronchų epitelio sa-

vybės gali būti sugrupuotos į tris dalis: *fizinis barjeras* dėl glaudaus ląstelių kontakto, tvirtų jų jungčių; *cheminis barjeras*, kurį formuoja epitelio ląstelių sekretas, pvz.: gleivės, antioksidantai; *imuninis barjeras* – imuninis atsakas, ląstelių sąveika adhezijos būdu, mediatorių atpalaidavimas, įskaitant citokinus ir chemokinus [18]. Yra įrodymų, kad bronchų epitelio funkcija sergant astma dėl genetinių ar aplinkos veiksnių būna sutrikusi [10]. Nėra iširta, ar tokie aplinkos veiksniai kaip oro tarša, tabako dūmai gali sukelti epigeninius pokyčius, kurie keistų genų raišką. Manoma, kad sutrikusios epitelio barjerinės funkcijos sudaro prielaidas greitesniam audinių pažeidimui, sutrikusiam gijimui. Atrodo, kad astma sergančių asmenų ir pažeisto epitelio gijimo mechanizmai yra sutrikę, formuojasi lėtinis žaizdos gijimo atsakas. Dėl to suaktyvėja epitelio ir mezenchimos struktūrinis funkcinis vienetas, lemiantis fibrozę, bronchų struktūros pokyčius ir remodeliavimąsi [10, 19] (2 pav.). Prie bronchų remodeliavimosi nuolatinio apatinių kvėpavimo takų uždegimo fone prisideda ir sąveikaujančių limfocitų bei monocitų išskiriami fibrogeniniai citokinai, sužadinantys ir skatinantys fibrozės procesus [19].

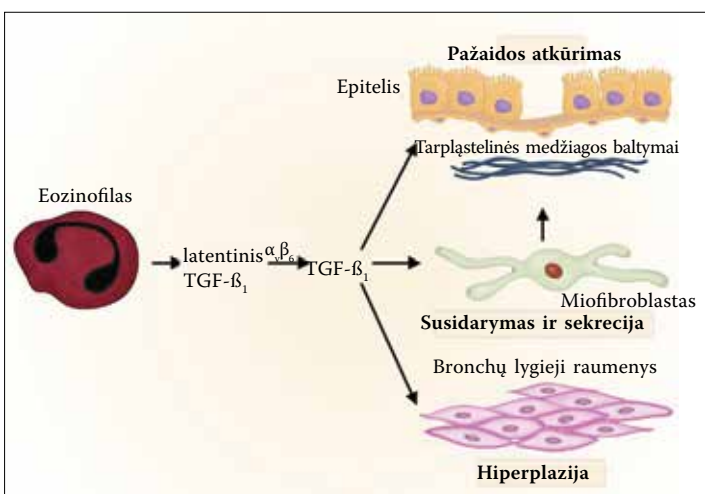
Eozinofilų įtaką bronchų remodeliavimuisi sergant astma paremia tyrimų duomenys, kad audinių eozinofilija, padidėjusi eozinofilų degranuliacija yra susijusios su fibroziniiais pokyčiais [19]. Dar manoma, kad eozinofilai bronchų lygiuosius raumenis veikia ir tiesiogiai (per adheziją). Ir nors tikslus eozinofilų vaidmuo astmos patogenezėje nėra aiškus, naujuose astmos tyrimuose eozinofilai vadinami svarbiomis uždegimo ląstelėmis bronchų remodeliavimuisi prasidėti ir vykti. Eozinofilai į plaučius patenka dėl netiesioginės reakcijos ir alergėnų ir atpalaiduoja medžiagas, skatinančias bronchų hiperreaktyvumą, išskiria citokinus, fibrogeninius veiksnius [19]. Astma sergančio žmogaus kvėpavimo takuose eozinofilai išskiria latentinį transformuojantį augimo veiksnį beta 1 (angl. *Transforming Growth Factor β1*, TGF-β1), skatinantį fibrozę [19]. Šis yra aktyvinamas epitelio ląstelių išskiriamo integrino α<sub>v</sub>β<sub>6</sub>. Fibroblastų kiekis koreliuoja su TGF-β1 raiška [19]. TGF-β1 yra svarbus fibroblastų chemotaksio veiksnys, kuris skatina fibroblastų diferenciaciją į miofibroblastus, stimuliuoja bronchų lygiųjų raumenų hiperplaziją [19], sužadina tarpląstelinės medžiagos baltymų sekreciją (3 pav.). TGF-β yra susijęs ir su naujai nustatytu WNT signaliniu keliu [20]. Nepaisant, kad bronchų lygiųjų raumenų ląstelėse vyksta daugelio WNT ligandų raiška, galimai svarbiausias jų yra nekanoninis WNT-5A. Padidėjusi WNT-5A baltymų gamyba bronchų lygiųjų raumenų ląstelėse sergant astma gali prisidėti formuojant struktūrinius ir funkcinis bronchų pokyčius, įskaitant tarpląstelinės medžiagos baltymų gamybą [20]. Įdomu, kad astma sergančių asmenų bronchų lygiųjų raumenų ląstelėse nustatoma WNT-5A raiška yra du kartus didesnė nei ja nesergančių [20]. Sharma su kolegomis (2010) patvirtino, kad genų polimorfizmas WNT signaliniame kelyje yra susijęs su sutrikusia astma sergančių vaikų plaučių funkcija. Kumawat su kolegomis (2013) pirmą kartą nustatė nekanoninių WNT signalinę reikšmę bronchų lygiųjų raumenų ląstelių TGF-β sukeltai tarpląstelinės medžiagos raiškai. Tai leidžia daryti prielaidą, kad WNT-5A gali būti svarbus bronchų struktūros pokyčiams išsivystyti. Tačiau kol kas neaišku, ar WNT sekrecijai įtakos turi eozinofilai. Halwani su kolegomis (2013) nustatė, kad blokuojant eozinofilų tiesioginį kontaktą (adheziją) su bronchų lygiųjų raumenų ląstelėmis specifiniais antikūnais, slopinama bronchų lygiųjų raume-



1 pav. Sveiko ir astma sergančio žmogaus bronchų struktūros pokyčiai  
<http://ajplung.physiology.org/content/305/12/L912>



2 pav. Bronchų remodeliavimo procesas molekulių ir ląstelių lygmenyse  
<http://www1.imperial.ac.uk/nhli/respiratory/leukocyte/airway/>



3 pav. Eozinofilų sintetinio TGF-β1 įtaka bronchų remodeliavimuisi  
<http://www.jci.org/articles/view/21073/figure/1>

nų proliferacija [21]. Bronchų lygiųjų raumenų sintetinami citokinai sukelia eozinofilų diferenciaciją, brendimą iš kamieninių ląstelių ir taip skatina eozinofilinį uždegimą, bronchų remodeliavimąsi [21].

Naujoms astmos patogenezės hipotezėms patikrinti reikalingi specialūs astmos tyrimo modeliai. Dauguma gyvūnų modelių yra alerginės kilmės bronchų uždegimo modeliai, kai bronchų uždegimas eksperimentiniam gyvūniui sukeltas po pradinio įjautrinimo alergenu. Tiesioginis tyrimų su gyvūnais palyginimas gali būti gana sudėtingas, o rezultatų interpretavimas ir pritaikymas žmonėms turi būti atsargus. Pelių alerginio bronchų uždegimo modeliai prisidėjo prie Th1 ir Th2 ląstelių kontroliuojamo imuninio atsako sergant astma supratimo. Kadangi kai kurie astmos tyrimai gali būti atliekami su astma sergančiais savanoriais [10], yra galimybė plėtoti *ex vivo* ir *in vitro* žmogaus bronchų struktūrinių pokyčių tyrimų modelius ir su jais atlikti tyrimus, kurie dėl griežtų etikos taisyklių negali būti atliekami *in vivo* [10]. Tyrimai skiriasi sudėtingumu – nuo paprastų monokultūrų su maža struktūrine sandara iki sudėtingų 3D kultūrų su gausybe įvairių ląstelių (fibroblastų, bronchų epitelio, lygiųjų raumenų ląstelių), išlaikančių struktūrinę sandarą (*ex vivo* audinių eksplantatai; *ex vivo* tyrimų atlikimą labai riboja laikas ir kiekybė dėl santykinai trumpo ląstelių gyvavimo periodo) arba imituojančių (audinių *in vitro* modeliai) žmogaus struktūrinius elementus. Ląstelių kultūrų linijos plačiai naudojamos tiriant ląstelių signalo perdavimo kelius ir pagrindinį ląstelinį atsaką, naujus astmos patogenezės aspektus. Pirminių ląstelių, išaugintų iš plaučių audinio, kultūrų linijos gaminamos ir komerciškai.

## IŠVADOS

Nuolat vykstant intensyviems astmos patogenezės tyrimams, daugėja duomenų apie eozinofilų, TGF-β, WNT-5A baltymų svarbą bronchų remodeliavimuisi sergant astma. Tikėtina, kad tyrimų rezultatai padės ne tik pagilinti astmos patogenezės žinias, bet ir nustatyti naujus gydymo taikinius, prisidės kuriant naujas astmos gydymo strategijas.

### NEW ASPECTS IN ASTHMA PATHOGENESIS

VIRGINIJA KALINAUSKAITĖ, KĘSTUTIS MALAKAUSKAS  
 DEPARTMENT OF PULMONOLOGY AND IMMUNOLOGY ACADEMY OF MEDICINE  
 LITHUANIAN UNIVERSITY OF HEALTH SCIENCES

**Keywords:** asthma, eosinophils, airway smooth muscle, remodelling, WNT-5A.

**Summary.** Asthma is a chronic, inflammatory disease of the airway characterized by intermittent airflow limitation, airway hyperresponsiveness, presence of activated inflammatory cells and mediators, airway structural changes (remodelling). Airway smooth muscle (ASM) cells actively participate in the remodelling and inflammatory processes through proliferation, release of proinflammatory cytokines, chemokines, and extracellular matrix (ECM) proteins. Eosinophils as essential inflammatory cells may be of importance in ASM remodelling. Eosinophils induce ASM cells proliferation via the secretion of cysteinyl leukotrienes in asthmatics. However there is a possible direct eosinophil-ASM cells functional interaction by adhesion processes. Wingless/integrase-1 (WNT) signaling pathway may be important in the pathogenesis of asthma. The identified WNT-5A is the most abundant WNT ligand with increased expression in asthmatics. It demonstrates that WNT-5A could contribute to remodelling of the airways. Unfortunately, the effect of eosinophil on WNT secretion by ASM cells at present is unknown. Despite the widely acknowledged significance of eosinophils in asthma pathogenesis, the mechanism of eosinophil induced ASM remodelling is unsolved.

Literatūros šaltiniai (iš viso 21) redakcijoje.