

Kraujo neutrofilų aktyvumas po bronchų provokacijos *D. pteronyssinus* alergenu sergant alergine astma ir rinitu

Simona Lavinskiene

LSMU MA Pulmonologijos ir imunologijos klinika

Reikšminiai žodžiai: neutrofilai, uždegimas, alerginė astma, alerginis rinitas, *Dermatophagoides pteronyssinus*.

Santrauka. Manoma, kad neutrofilai turi svarbios įtakos alergeno sukeliama imuniniam atsakui sergant alerginėmis kvėpavimo ligomis. Šio tyrimo tikslas buvo įvertinti alergine astma ir rinitu sergančių asmenų kraujo neutrofilų fagocitinį aktyvumą, reaktyvių deguonies formų susidarymą (ROS) ir chemotaksį prieš bronchų provokaciją *D. pteronyssinus* alergenu ir po jos.

Alerginis rinitas ir astma yra lėtinės kvėpavimo takų uždegimo ligos. Šias ligas skatina daug veiksnių, tačiau pagrindinis jų – pakitęs imuninės sistemos atsakas į įprastas aplinkos medžiagas.

Abiejų atopinių ligų patofiziologiniai mechanizmai yra labai panašūs. Tyrimai rodo, jog alerginis rinitas yra astmos rizikos veiksnys, be to, 80 proc. asmenų, sergančių astma, kartu diagnozuojamas ir alerginis rinitas [1]. Naujausiais tyrimais mokslininkai nustatė, kad, sergant alerginėmis kvėpavimo takų ligomis, vyrauja ne tik eozinofilai ir jų sąlygotas uždegimas – jų patogenezėje svarbios ir kitos ląstelės. Sergantiems alerginėmis kvėpavimo ligomis, ypač nekontroliuojama ar paūmėjusia astma, nustatoma intensyvi neutrofilų infiltracija kvėpavimo takuose [2].

Neutrofilų funkcijos – fagocitozė, reaktyvių deguonies formų (ROS) susidarymas, chemotaksis – infekcinio uždegimo sąlygomis yra gan plačiai tyrinėjamos, nemažai tyrimų atliekama siekiant nustatyti neutrofilų ir jų funkcijų pokyčių reikšmę sergant lėtine obstrukcine plaučių liga [3]. Sutrikęs neutrofilų aktyvumas lemia neefektyvų antikūnų pašalinimą ir skatina intensyvesnį kvėpavimo takų uždegimą. Tačiau duomenų apie neutrofilų funkcijų ypatumus sergant alerginėmis kvėpavimo takų ligomis stokojama [4].

Todėl LSMU MA Pulmonologijos ir imunologijos klinikos mokslininkų grupė – prof. K. Malakauskas, doc. A. Vitkauskienė, dr. J. Jeroch, dokt. I. Bajoriūnienė, dokt. S. Lavinskiene, dokt. J. Jackutė, vadovaujama prof. R. Sakalausko, vykdė Lietuvos mokslo tarybos Nacionalinės mokslo programos „Lėtinės neinfekcinės ligos“ projektą „Uždegimo ląstelių fenotipo ir funkcijų ypatumai prognozuojant alerginių kvėpavimo ligų eigą“ (projekto nr. LIG-18/2010), kurio vienas iš uždavinių buvo ištirti ir palyginti alerginėmis kvėpavimo ligomis (alerginiu rinitu ir astma) sergančių asmenų periferinio kraujo neutrofilų funkcijas ir jų pokyčio įtaką šių ligų vystymuisi.

Tyrėjai, siekdami imituoti ligos paūmėjimą, kurio metu

vertinga tirti uždegimo ląstelių pokyčius, pasirinko bronchų provokacijos namų dulkių erkės *D. pteronyssinus* alergenu modelį [5]. Kitų tyrėjų duomenimis, tam tikri šio alergeno struktūros ypatumai išskiria *D. pteronyssinus* iš visų kitų įkvėpiamųjų alergenų, sukeliančių kvėpavimo takų alergines ligas: šis alergenas susijęs su vėlyvosios bronchų obstrukcijos išsivystymu bei vėlyvąją (lėtine) alerginio uždegimo faze [6] ir yra vienas iš labiausiai paplitusių nuolatinių įkvėpiamųjų alergenų Lietuvoje.

Tyrimė dalyvavo 80 suaugusių asmenų: 30 sergančių alergine astma, 30 sergančių alerginiu rinitu ir 20 sveikų kontrolinės grupės asmenų. Visiems tiriamiesiems buvo atliktas fizinis tyrimas, plaučių funkcijos tyrimas, bronchų provokacija metacholinu ir alerginiai odos dūrio mėginiai. 24 val. iki specifinės bronchų provokacijos *D. pteronyssinus* alergenu, 7 val. ir 24 val. po provokacijos buvo paimta periferinio kraujo, iš kurio išskirti neutrofilai ir vertintos šių ląstelių funkcijos: fagocitinis aktyvumas, ROS susidarymas bei chemotaksis. Tyrimo eiga pavaizduota paveiksle.

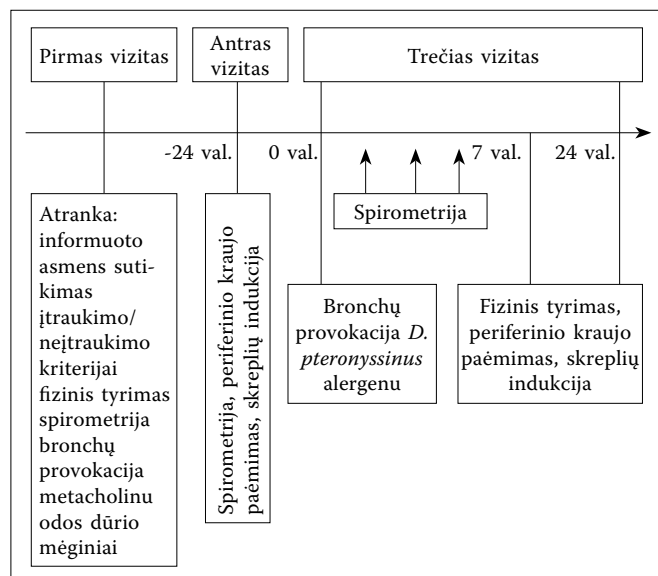
Kaip žinia, neutrofilai fagocitozės metu pašalina įvairias kvėpavimo takus su įkvėpiamu oru patekusias daleles, mikroorganizmus, taip pat žuvusias ląsteles nepažeidžiant aplinkinių audinių [7]. Šio projekto tyrėjai neutrofilų fagocitiniam aktyvumui vertinti ląsteles aktyvino *S. aureus* bakterijomis, kurios buvo pasirinktos kaip standartinis neutrofilų fagocitinio aktyvumo tyrimo veiksnys. Prieš provokaciją specifiniu alergenu sveikų asmenų neutrofilų fagocitinis aktyvumas buvo nustatytas intensyvesnis nei sergančių alerginiu rinitu ir astma. Po provokacijos praėjus 7 val. ir 24 val. alerginiu rinitu ir astma sergančių asmenų grupėse neutrofilų fagocitinis aktyvumas suaktyvėjo lyginant su pradiniais duomenimis, gautais prieš provokaciją, tačiau liko silpnesnis nei sveikų asmenų. S. J. Galli su bendradarbiais nustatė, kad sutrikęs neutrofilų fagocitinis aktyvumas gali turėti įtakos alergeno sukeltam uždegimo persistavimui bei tęstis 24 val. ir ilgiau [8]. Silpnesnė nei sveikų asmenų alerginiu rinitu ir alergine

astma sergančių ligonių kraujo neutrofilų fagocitozė leidžia manyti, kad sveikų asmenų kraujo neutrofilai geba efektyviau reaguoti ir pašalinti bakterinės kilmės patogenus. Taip apsaugomi aplinkiniai audiniai ir ląstelės nuo uždegimo plitimo. Tuo tarpu silpnėsnė sergant alerginiu rinitu ir astma neutrofilų fagocitozė neprieštarauja prielaidai, kad neutrofilai, negebėdami efektyviai sunaikinti patogeninių dalelių, sąlygoja kitus uždegimo procesus ir uždegimo žymenų sintezę. LSMU mokslininkų atlikti tyrimai rodo, kad alergeno sukeltas vėlyvosios fazės uždegimas aktyvino ligonių kraujo neutrofilų fagocitinį aktyvumą, tačiau jis buvo silpnėsnis nei sveikų asmenų. Padidėjusi, bet ne tokia efektyvi ligonių neutrofilų fagocitozė rodo, jog, sergant alerginėmis kvėpavimo ligomis, ji būna sutrikusi.

Fagocitozės metu, neutrofiluose padidėjus gliukozės ir deugonies sąnaudoms, vyksta oksidacinis stresas, kuris sąlygoja ROS susidarymą [9]. Sveikų asmenų organizme nuolat palaikoma pusiausvyra tarp susidaranciu ROS ir jų neutralizacijos. Sutrikus pusiausvyrai ir esant nuolatinei ROS gamybai, sąlygojami negrįžtami biologinių makromolekulių – nukleorūgščių baltymų, angliavandenių ir lipidų – pokyčiai [10]. Minėto projekto tyrėjai vertino ROS susidarymą kraujo neutrofiluose, aktyvintuose biologiniu (*S. aureus*) ir cheminiu (PMA) veiksniais. Cheminis ROS susidarymą skatinantis veiksnys aktyvina signalinę PKC sistemą, kuri aktyvina NADPH-oksidadę ir taip skatina viduląstelinio vandenilio peroksido susidarymą neutrofiluose [11]. *S. aureus* sąlygotas ROS susidarymas vyksta dėl Fc tipo receptorių tarpininkaujamo NADPH-oksidadės fermentinės sistemos aktyvinimo [12]. Gauti rezultatai, kad ROS susidarymas kraujo neutrofiluose buvo intensyvesnis sergant alerginėmis kvėpavimo takų ligomis tiek prieš provokaciją alergenu, tiek ir po jos, lyginant su sveikais asmenimis, itin ženklus ROS susidarymas nustatytas alergine astma sergančių asmenų grupėje. Gauti rezultatai leidžia manyti, kad padidėjusi, bet neefektyvi neutrofilų fagocitozė sergant alerginėmis kvėpavimo takų ligomis yra lydima ir kitos funkcijos sutrikimo, t. y. padidėjusios ROS gamybos, kuri ypač ryški alergeno sukulto vėlyvosios fazės uždegimo metu.

Tyrimė vertintas ir neutrofilų chemotaksis – tikslingas ląstelių migravimas į uždegimo vietą reaguojant į chemoatraktantus. Pagrindiniu neutrofilų chemoatraktantu yra įvardijamas IL-8, kuris gali būti išskiriamas aktyvintų putliųjų bei kitų ląstelių, be to, IL-8 suaktyvinti neutrofilai patys išskiria IL-8, kas skatina uždegimo proceso vystymąsi, dar labiau aktyvina neutrofilų chemotaksį į uždegimo židinį [13]. Projekto tyrėjų duomenimis, kraujo neutrofilų chemotaksis prieš provokaciją *D. pteronyssinus* alergenu buvo intensyvesnis sergant alerginiu rinitu ir alergine astma nei sveikų asmenų grupėje. Po bronchų provokacijos praėjus 7 val. ir 24 val., ligonių grupėse IL-8 sąlygojo aktyvesnį neutrofilų chemotaksį nei sveikų asmenų grupėje. Suaktyvėjęs kraujo neutrofilų chemotaksis po provokacijos alergenu rodo, kad neutrofilai yra aktyvūs alerginio uždegimo proceso metu, o tai gali sąlygoti chemoatraktantų ir uždegimo žymenų sintezę, kas skatina lėtinio uždegimo vystymąsi. Bronchų provokacija alergenu neturėjo jokios įtakos sveikų asmenų kraujo neutrofilų funkcijoms.

Tyrimo duomenys leidžia teigti, kad pakitusios neutrofilų funkcijos yra susijusios su alerginio rinito ir astmos išsivystymu ir veikiamos provokacijos *D. pteronyssinus* alergenu. Tyrimas patvirtina alergeno svarbą lėtinės alerginės ligos išsivystymui ir įrodo, kad vengti alergeno yra vienas svarbiausių alerginių kvėpavimo takų ligų gydymo būdų.



Pav. Tyrimo eiga

PERIPHERAL BLOOD NEUTROPHIL ACTIVITY AFTER BRONCHIAL ALLERGEN CHALLENGE WITH *D. PTERONYSSINUS* IN PATIENTS WITH ALLERGIC ASTHMA AND RHINITIS

SIMONA LAVINSKIENĖ

DEPARTMENT OF PULMONOLOGY AND IMMUNOLOGY
LITHUANIAN UNIVERSITY OF HEALTH SCIENCES

Keywords: neutrophil, inflammation, allergic asthma, allergic rhinitis, Dermatophagoides pteronyssinus.

Summary. Recent investigations suggest that neutrophils may play an important role in the allergen-induced inflammation in allergic airway diseases. The aim of this study was to evaluate neutrophil activity (phagocytic activity, reactive oxygen species (ROS) production and chemotaxis) in patients with allergic asthma and rhinitis challenged with inhaled Dermatophagoides pteronyssinus.

Straipsnis, skelbiantis šio tyrimo duomenis „Peripheral Blood Neutrophil Activity During Dermatophagoides pteronyssinus-Induced Late-Phase Airway Inflammation in Patients with Allergic Rhinitis and Asthma“, publikuotas žurnale „Inflammation“ DOI: 10.1007/s10753-012-9475-0.

LITERATŪRA

- Ciprandi G, Filaci G, Battaglia F, Fenoglio D (2010) Peripheral Th-17 cells in allergic rhinitis: New evidence. *Int Immunopharmacol* 10: 226-229.
- Monteseirin J. Neutrophils and Asthma. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2009; 19(5): 340-54.
- Stringer KA, Tobias M, O'Neill HC et al. 2007. Cigarette smoke extract-induced suppression of caspase-3-like activity impairs human neutrophil phagocytosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 292: L1572-9.
- Dreus AC, Pizzichini MM, Pizzichini E et al. 2009. Neutrophilic inflammation is a main feature of induced sputum in nonatopic asthmatic children. *Allergy* 64: 1597-601.
- Gauvreau GM, Evans MY (2007) Allergen inhalation challenge: a human model of asthma exacerbation. *Contrib Microbiol* 14: 21-32.
- Van Der Veen MJ, Jansen HM, Aalberse RC, van der Zee JS (2001) Der p 1 and Der p 2 induce less severe late asthmatic responses than native Dermatophagoides pteronyssinus extract after a similar early asthmatic response. *Clin Exp Allergy* 31 (5): 705-714.
- van der Vliet A. 2008. NADPH oxidases in lung biology and pathology. Host defense enzymes, and more. *Free Radic Biol Med* 44: 938-55.
- Galli SJ, Tsai M, Piliponsky AM. The development of allergic inflammation. *Nature* 2008; 454: 445-454.
- Terada LS. 2006. Specificity in reactive oxidant signalling: think globally, act locally. *J Cell Biol* 174: 615-23.
- MacNee W. Oxidative stress and lung inflammation in airways disease. *Eur J Pharmacol* 2001; 429: 195-07.

Kiti literatūros šaltiniai (iš viso 13) redakcijoje.