

PLAUČIŲ IMUNOHISTOCHEMINIAI POKYČIAI SERGANT LĒTINE OBSTRUKCINE PLAUČIŲ LIGA IR ASTMA

ASTA JANUŠKEVIČIŪTĖ

KMU PULMONOLOGIJOS IR IMUNOLOGIJOS KLINIKA

Reikšminiai žodžiai: lėtinė obstrukcinė plaučių liga (LOPL), astma, imunohistochemija, patogenezė.

Santrauka. Astma ir lėtinė obstrukcinė plaučių liga (LOPL) – lėtinės, obstrukcinės kvėpavimo takų uždegimo ligos, kurios skiriasi savo klinika bei patogeneze. Astmos bei LOPL patogenezėje dalyvauja daug ląstelių. Imunohistocheminiais metodais nustatomas padidėjęs neutrofilų, makrofagų bei CD8+ T limfocitų kiekis LOPL atvejais ir padidėjęs eozinofilų, putliųjų ląstelių, CD4+ T limfocitų kiekis bronchų astmos atvejais.

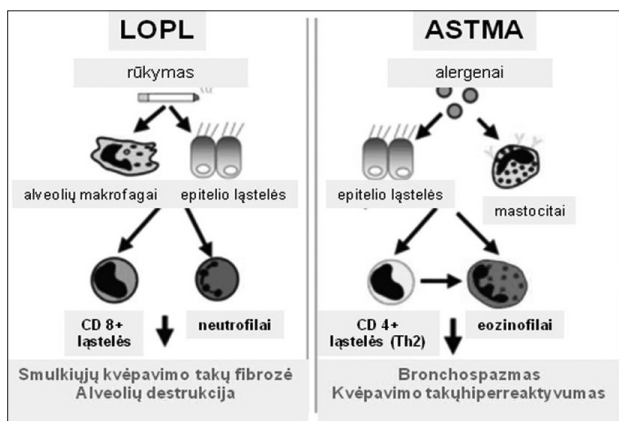
Astma ir lėtinė obstrukcinė plaučių liga (LOPL) – lėtinės, obstrukcinės kvėpavimo takų uždegimo ligos, kurios skiriasi savo klinika bei patogeneze (1 pav). Šių ligų patogenezėje dalyvauja įvairios imuninės ląstelės, jų išskiriami mediatoriai ir adhezijos molekulės, kurias nustatyti padeda imuniniai tyrimai, vienas iš jų – imunohistocheminis.

Imunohistocheminis tyrimas – tai antigenų nustatymas ligonio audiniuose ar skysčiuose, kai naudojant fermentus ir fermentų kompleksus bespalviai chromogenai paverčiami spalvotais junginiais. Tyrimo pavadinimas sudarytas iš dviejų dalių: *imuno* – rodo, kad tiriant naudojami antikūnai, *histo* – reiškia audinį (skirtingai nuo imunocitocheminių tyrimų, kuriais tiriamos tik ląstelės, o ne audinys), kuriame ieškoma įvairių antigenų. Klinikinėje praktikoje imunohistocheminiai tyrimai dažniausiai taikomi diagnozuojant navikus. LOPL ir astmos atvejais imunohistocheminiai tyrimai atliekami siekiant suvokti

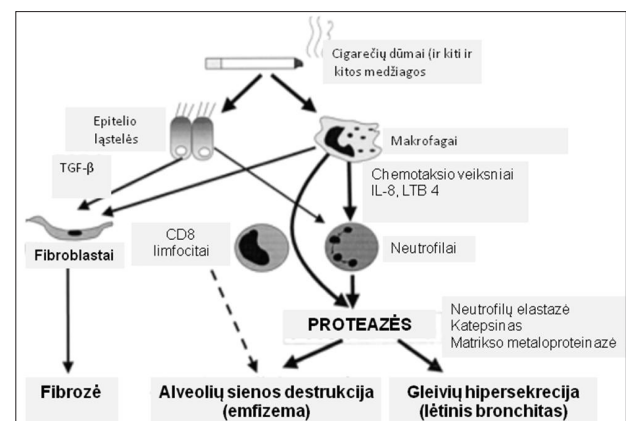
patogenezę, ieškant ligos sunkumo kriterijų, vertinant gydymo veiksmingumą.

LOPL PATOGENEZĖ

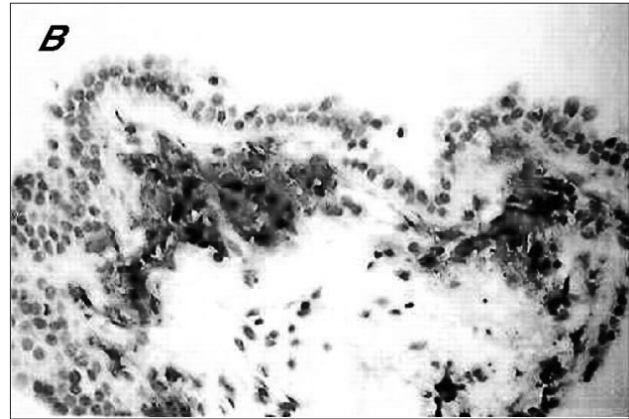
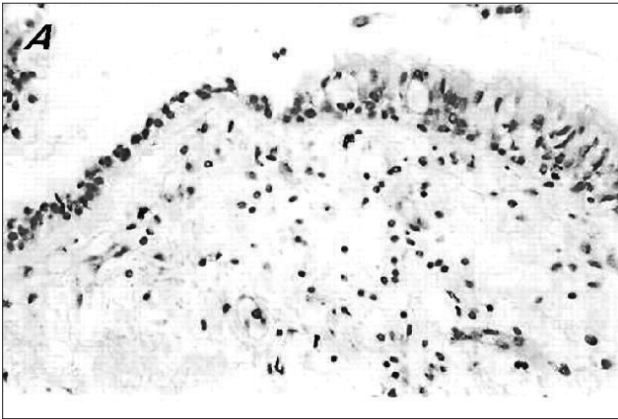
Sergant LOPL, kvėpavimo takų uždegimą dažniausiai sąlygoja rūkymas, kvėpavimo takų nepraeinamumas yra lėtinis, progresuojantis, silpniau reaguojama į inhaliuojamuosius vaistus. Dėl lėtinio kvėpavimo takų uždegimo ar provokuojančių veiksnių bronchų gleivinę ir pogleivį infiltruoja uždegimo ląstelės (makrofagai, CD8 T limfocitai, neutrofilai, eozinofilai). Pažeidžiamos visos kvėpavimo takų epitelio ląstelės: virpamosios – sutrinka mukociliarinis klirensas; taurinės – sutrinka sekretinė epitelio funkcija, sustiprėja sekrecija, atsiranda bronchų sekreto sąstovis, reologinių sekreto pokyčių; pamatinės – sutrinka regeneracija. Uždegimo ląstelių išskiriami mediatoriai skatina virpamojo epitelio metaplaziją į daugiasluoksnį plokščiąjį epitelį, esant ląstelių pažeidimui bei sekreto reologinių



1 pav. LOPL IR ASTMOS PATOGENEZĖS SKIRTUMAI



2 pav. LOPL PATOGENEZĖ



4 pav. NEUTROFILŲ ELASTAZĖ, NUSTATYTA IMUNOHISTOCHEMINIU METODU, STABILIA ASTMA SERGANČIO LIGONIO PLAUČIŲ AUDINYJE (A) BEI ASTMAI PAŪMĖJUS (B)

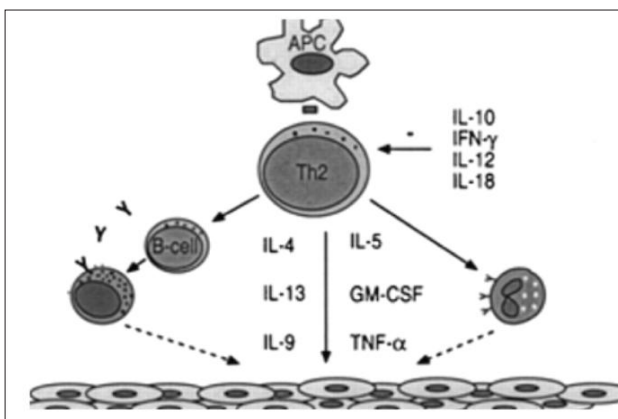
savybių pokyčiams kvėpavimo takuose telkiasi bakterijos. Dėl uždegimo ląstelių ir mikroorganizmų išskiriamų proteazių bei aktyviųjų deguonies junginių sutrinka proteazių ir antiproteazių bei oksidantų ir antioksidantų pusiausvyra, irsta jungiamasis kvėpavimo takų ir plaučių parenchimos audinys. Uždegimo ląstelių išskiriamos biologiškai aktyvios medžiagos (histaminas, leukotrienai ir kitos) bei dengiamojo epitelio pažeidimas lemia bronchų hiperreaktyvumą ir spazmą. Ligai užsitęsus, išryškėja gleivinės hiperplazija, bronchų lygiųjų raumenų hipertrofija, struktūrinių ir funkcinių smulkiųjų bronchų pokyčių (deformacija, sklerozė, obturacija, ekspiracinis bronchų kolapsas bei kt.) ir plaučių parenchimos pokyčių (emfizema, fibrozė, surfaktanto sintezės sutrikimas) (2 pav).

Uždegimo ląstelės ir jų išskiriamos medžiagos

- *Neutrofilai.* Skrepliuose, alveolių ir bronchų išplovose (BAL skystyje) bei LOPL sergančio žmogaus plaučių audinio parenchimoje nustatomas padidėjęs aktyvių neutrofilų kiekis. Jie išskiria serino proteazes: neutrofilų elastazę, katepsiną G, proteinazę 3 bei matrikso metaloproteinazes (MMP)-8 ir -9, kurios skatina alveolių destrukciją. Nustatyta, kad yra tiesioginė sąsaja tarp neutrofilų kiekio biopsinėje medžiagoje bei indukuotuose skrepliuose ir LOPL sunkumo (Di Stefano ir kt., 1998) bei plaučių funkcijos prastėjimo (Stanescu ir kt., 1996). Neutrofilų išskiriamos serino proteazės bei oksidantai žaloja plaučių audinį, nors tiesioginio ryšio tarp neutrofilų kiekio ir alveolių destrukcijos nėra nustatyta (Fin-

kelstein ir kt., 1995). Kvėpavimo takų neutrofilija susijusi su gleivių hipersekrecija sergant lėtiniu bronchitu. Serino proteazės (neutrofilų elastazė, katepsinas G bei MMP-3) stimuliuoja gleives išskiriančias liaukas (Witko-Sarsat ir kt., 1999).

- *Makrofagai.* Makrofagai – svarbiausios ląstelės LOPL patofiziologijoje (Barnes, 2004). LOPL ligonių kvėpavimo takuose, plaučių parenchimoje, alveolių ir bronchų išplovose bei skrepliuose makrofagų kiekis padidėja nuo penkių iki dešimties kartų, palyginti su sveikais asmenimis. Morfometrines makrofagų kiekio plaučių audinyje analizės duomenimis esant plaučių emfizemai, palyginti su rūkančiais asmenimis, makrofagų parenchimoje padaugėja dvidešimt penkis kartus (Retamales ir kt., 2001) ir jie telkiasi alveolių sienos destrukcijos vietose (Finkelstein ir kt., 1995; Meshi ir kt., 2002). Nustatyta, jog yra tiesioginis ryšys tarp makrofagų kiekio ir LOPL sunkumo (Di Stefano ir kt., 1998). Cigarečių dūmuose esančios medžiagos suaktyvina makrofagus, kurie išskiria uždegimo mediatorius: MMP-2, MMP-9, MMP-12, katepsiną K, L ir S (Punturieri ir kt., 2000; Russell ir kt., 2002). Sergant LOPL, alveolių makrofagai išskiria daugiau uždegimo mediatorių, palyginti su rūkančiais, bet LOPL nesergančiais asmenimis (Russell ir kt., 2002). LOPL atveju vyraujanti makrofagų išskiriama proteazė yra MMP-9, o daugelio uždegimo mediatorių makrofaguose išsiskyrimą reguliuoja transkripcijos faktorius NF-B (Di Stefano ir kt., 2002; Caramori ir kt., 2003).
- *T limfocitai.* Sergant LOPL, plaučių parenchimoje ir centriniuose bei periferiniuose kvėpavimo takuose padaugėja T limfocitų – labiau CD8+ nei CD4+ ląstelių (Finkelstein ir kt., 1995; O’Shaughnessy ir kt., 1997; Saetta ir kt., 1999; Majo ir kt., 2001; Retamales ir kt., 2001). Pastebėta tiesioginė sąsaja tarp T limfocitų kiekio, alveolių destrukcijos bei kvėpavimo takų obstrukcijos laipsnio. Be to, nustatyta, kad padidėja absoliutusis CD4+ T ląstelių skaičius. CD8+ ląstelės geba sukelti citolizę bei alveolių epitelio ląstelių apoptozę, išskirdamos granimą-B ir tumoro nekrozės veiksnį (TNF)-α. Yra nustatyta sąsaja tarp CD8+ ląstelių kiekio ir alveolių ląstelių apoptozės esant emfizemai (Majo ir kt., 2001).



3 pav. CITOKINAI ASTMOS PATOGENEZĖJE

1 lentelė. CITOKINŲ FUNKCIJOS

Limfokinai	Uždegimo	Slopinantieji citokinai	Augimo faktoriai
IL-2	T ląstelių augimas ir diferenciacija	IL-1	Adhezija prie endotelio; eozinofilų kaupimasis
IL-3	Eozinofilija in vivo	<i>in vivo</i>	
IL-4	Eozinofilų augimas ↑ Th ₂ ląstelių; Th ₁ ląstelių; IgE ↑	Augimo faktorius Th ₂ ląstelėms	IL-10
IL-5	Eozinofilų brendimas	B ląstelių augimo faktorius;	Eozinofilų gyvavimo laikas ↓ Th1 ir Th2 ląstelės ↓ Monocitų/macrofagų aktyvinimas; B ląstelių, makrofagų augimas ↓ BHR ↓
	Apoptozė ↓ Th2 ląstelių ↓ BHR	T ląstelių ir epitelio ląstelių aktyvinimas	IFN-γ
IL-13	Eozinofilų aktyvinimas	BHR	Eozinofilų antplūdis patekus alergeniui
	Apoptozė IgE ↓	Epitelio, endotelio ląstelių, monocitų/makrofagų aktyvinimas	Th2 ląstelės ↓ Endotelio ir epitelio ląstelių, alveolių makrofagų/monocitų aktyvinimas
IL-15	T ląstelių augimas ir diferenciacija	BHR	IgE ↓ BHR ↓
IL-16	Eozinofilų migracija	IL-6	per IFN-γ atspalaidavimas ↓
	Augimo faktorius ir T ląstelių (CD4+) chemotaksis	IL-11	IFN-γ išsiskyrimas iš Th ₁ ląstelių
IL-17	T ląstelių proliferacija	BHR	NK ląstelių, monocitų aktyvinimas
	Epitelio, endotelio ląstelių ir fibroblastų aktyvinimas	GM-CSF	IgE ↓
		Eozinofilų apoptozė ir aktyvinimas; leukotrienų atspalaidavimo skatinimas	
		Hemopoetinių ląstelių proliferacija ir brendimas; endotelio ląstelių migracija	
		BHR	

IL – interleukinas; TNF – tumoro nekrozės faktorius; GM-CSF – granulocitų makrofagų kolonijas stimuliuojantis veiksnys; IFN – interferonas; PDGF – trombocitų augimo faktorius; Th ląstelės – T limfocitai; BHR – bronchų hiperreaktyvumas; ASM – kvėpavimo takų raumeninės ląstelės.

- Eozinofilai. Šių ląstelių radimas biopsinėje medžiagoje LOPL atveju – galimo gero atsako į gydymą kortikosteroidais prognozės rodiklis, ir verčia susimąstyti, ar kartu nėra kitos ligos – astmos. Eozinofilų kiekio padidėjimas pastebimas ir LOPL paūmėjus (Saetta ir kt., 1996).
- Epitelio ląstelės. Epitelio ląstelės, aktyvuotos cigarečių dūmuose esančių medžiagų, gamina uždegimo mediatorius: TNF-α, interleukiną (IL)-1β, granulocitų makrofagų – kolonijas stimuliuojantį veiksnį (GM-CSF) ir IL-8. Smulkiųjų kvėpavimo takų epitelio ląstelės gali būti svarbus transformuojančio augimo veiksnio (TGF)-β šaltinis, kuris sukelia lokalią fibrozę.

ASTMOS PATOGENEZĖ

Astma – tai lėtinė kvėpavimo takų uždegimo liga, kuriai būdingas suaktyvėjusių eozinofilų, putliųjų ląstelių, Th2 CD4+ limfocitų, kartais ir neutrofilų (dažniau paūmėjimų metu) kaupimasis alveolių kapiliaruose, intersticiniame audinyje, alveolėse. Ja sergant vyrauja citokinai IL-4, IL-5, IL-13 (3 pav.). Dėl uždegimo padidėja bronchų reaktyvumas įvairiems dirgikliams, ryškėja išplitusi, įvairaus laipsnio, dažniausiai grįžtamoji (epizodinė) kvėpavimo takų obstrukcija, kliniškai pasireiškianti dusulio ar kosulio priepuoliais, praeinanti savaime arba gydant.

Tiriant astmos ligonių plaučių audinio biopsinę medžiagą, nustatomas padidėjęs kiekis įvairių mediatorių:

- Th₂ ląstelių išskiriamų citokinų: IL-4, 5, 9 ir 13;
- proūždegimo citokinų: TNF-α ir IL-1β;

- chemokinų: RANTES (angl. *regulated on activation normal T-cell expressed and secreted*), eotaksinų ir monocitų chemotaksio baltymų (MCP)-1;
- augimo faktoriaus (TGF-α, epidermio augimo faktoriaus) (1 lentelė).

Paūmėjimo metu eozinofilų ir neutrofilų padaugėja kvėpavimo takų gleivinėje. Eozinofilai ir makrofagai išskiria mediatorius – histaminą ir cisteinilo leukotrieną (cys-LTs), kurie sukelia bronchospazmą, kvėpavimo takų edemą bei gleivių hipersekreciją. Sunkios astmos atvejais imunohistocheminiais plaučių audinio tyrimais nustatomas didelis kiekis eozinofilų ir netgi dar didesnis – neutrofilų bei jų išskiriamų mediatorių (Qiu Y. ir kt.; 2007) (4 pav.).

IMMUNOHISTOCHEMICAL CHANGES IN COPD AND ASTHMA

ASTA JANUŠKEVIČIŪTĖ
DEPARTMENT OF PULMONOLOGY AND IMMUNOLOGY
KAUNAS UNIVERSITY OF MEDICINE

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, asthma, immunohistochemistry, pathogenesis.

Summary. Asthma and COPD (chronic obstructive pulmonary disease) are two different inflammatory disorders of the lungs. Many cells are involved in the inflammatory response in asthma and, among these, CD4+ lymphocytes, mast cells and eosinophils are thought to play a crucial role. In COPD, the poorly reversible airflow limitation is associated with an abnormal inflammatory response of the lungs to noxious particles or gases [2]. This chronic inflammation is characterized by an increased number of CD8+ T-lymphocytes and macrophages in the lung tissue and neutrophils in the airway lumen.

Literatūros šaltiniai – redakcijoje (iš viso 17).