

PATOFIZIOLOGIJA ASTME

Pathophysiology of asthma

Neda Aberle

Odjel za dječije bolesti Opće bolnice "Dr. Josip Benčević" Slavonski Brod

Revijalni članak

Sažetak

Astma je kronična upalna bolest karakterizirana reverzibilnom opstrukcijom bronha, perzistentnom bronhalnom hiperreaktibilnošću (BHR) te upalom i remodelacijom dišnih putova. Etiologija te bolesti je kompleksna i multifaktorska. Nasljeđe igra važnu ulogu premda klasični mendelski tip nasljeđivanja ne postoji nego je nasljeđivanje poligeno. Involvirano je pet genomskih regija: 5q23-31, 12q15-24.1, 16p, 19q13 i 21q21. Doprinos nasljednih činitelja razvoju astmatskog fenotipa ovisi o interakciji s okolinom, a ekspozicija okolišnim faktorima počinje već začećem, putem majčine krvi. Tijekom trudnoće placenta je imunološki aktivna, a u intrauterinom okružju dominiraju citokini tipa Th2. Nakon rođenja, u djece se zbog primjene cjepiva, česte upotrebe antibiotika te sve boljih uvjeta stanovanja ograničava izloženost uobičajenim patogenima koji inače usmjeravaju razvoj imunostava prema zaštitnoj imunosti putem poticanja proizvodnje citokina tipa Th1, prvenstveno IFN- γ . Tako se nastavlja citokinski profil Th2 koji predisponira za sklonost alergiji. U ranoj fazi alergijske reakcije spajanje alergena s imunoglobulinom E rezultira izlučivanjem histamina, leukotrijena i prostaglandina iz mastocita i eozinofila što pobuđuje bronhokonstrikciju, izlučivanje sluzi i upalu, a u kasnoj alergijskoj reakciji nastaje stanična infiltracija dišnih putova mastocitima, eozinofilima, makrofazima, CD4+ T-limfocitima, plazma-stanicama i neutrofilima. Alergen-specifični CD4+ T-limfociti alergičnih osoba pripadaju citokinskom profilu tipa Th2 i proizvode prvenstveno IL-4, IL-13 i IL-5 a vrlo malo ili ništa IFN- γ . Ti limfociti iniciraju i podržavaju astmu. Strukturne promjene bronha, nazvane remodelacijom dišnih putova nastaju kao rezultat interakcije upalnih medijatora sa stanicama strome. U lamini retikularis ispod bazalne membrane odlazu se kolagen I, III i V, fibronektin i tenascin. Remodelacija dišnih putova i upala rezultiraju bronhalnom hiperreaktibilnošću (BHR) i bronhoopstrukcijom što otežava ekspirij i uzrokuje piskanje (engl. *wheezing*). Upala i strukturne promjene dišnih putova (utvrđene pomoću biopsije bronhalne sluznice) počinju dvije godine prije nego što simptomi astme postanu manifestni. Simptomi bronhoopstrukcije i piskanja postaju uočljivi tek kad remodelacija dosegne kritični stupanj. Istraživanjem interakcije imunostnih činitelja nastoji se razjasniti patogeneza perzistentne upale dišnih putova i njihova remodelacija kako bi se pronašle nove mogućnosti liječenja teških oblika astme koji se ne mogu kontrolirati postojećim terapijskim sredstvima.

Ključne riječi: astma, nasljeđivanje, ontogeneza imunostava, citokini, remodelacija dišnih putova.

Review article

Summary

Asthma is a chronic inflammatory disease characterized by reversible bronchial obstruction, persistent bronchial hyperreactivity (BHR), inflammation and remodeling of the airways. Its pathogenesis is complex and multifactorial. Inheritance is not mendelian but polygenic. Five genomic regions are involved: 5q23-31, 12q15-24.1, 16p, 19q13 i 21q21. Contribution of heritable factors to asthmatic phenotype depends on the exposure to environmental agents that starts in pregnancy via maternal blood. Placenta is immunologically active and type Th2 cytokines predominate during pregnancy. Vaccination, antibiotics and good housing conditions reduce exposure to common microorganisms that otherwise direct postnatal development of the immune system towards protective pattern by means of Th1 cytokines, particularly IFN- γ . Thus the type 2 cytokine pattern persists and favors allergic-type reactivity. Interaction of allergens with immunoglobulin E in early stage of allergic reaction releases histamine, leukotrienes and prostaglandin from mast-cells and eosinophils, resulting in bronchoconstriction, mucosal secretion and inflammation. In later stages infiltration with mast-cells, eosinophils, macrophages, CD4+ T-lymphocytes and neutrophils takes place in the airways. Allergen-specific CD4+ T-lymphocytes of allergic persons belong to the cytokine Th2 pattern and produce predominantly IL-4, IL-13 and IL-5 with almost no IFN- γ . They initiate and maintain pathological changes in asthma. Structural changes called airway remodeling result from interaction of inflammatory mediators with stromal cells. Collagens I, II and III, fibronectin and tenascin are deposited into lamina reticularis beneath the basal membrane. Remodeling and inflammation of the airways cause bronchial hyperreactivity (BHR) and obstruction which impede expiration and cause wheezing. Inflammation and structural changes of the airways (demonstrated by biopsies of bronchial mucosa) precede clinical symptoms of asthma by a year or two. Bronchial obstruction and wheezing become manifest when remodeling has reached critical stage. Study of immunological factors is expected to elucidate pathogenesis of persistent inflammation and remodeling of the airways in asthma. That would help design new therapeutic strategies for treatment of persistent asthmatic conditions that do not respond to presently available therapy.

Key words: asthma, inheritance, ontogenesis of the immune system, cytokines, airway remodeling.

UVOD

Astma je kronična upalna bolest karakterizirana reverzibilnom opstrukcijom bronha, upalom dišnih putova, perzistentnom bronhalnom hiperreaktibilnošću (BHR) i remodelacijom dišnih putova (1). Etiologija astme je kompleksna i

multifaktorska. Brojna su istraživanja pokazala izraziti porast incidencije astme i ostalih atopijskih bolesti te ukazuju na interakciju i udruženost genetike i okolišnih faktora. Osobito se ističu infekcije u ranom djetinjstvu kao zaštitnog činitelja koji sprečava razvoj astme (2).

GENETIKA

Iako klasični mendelski tip nasljeđivanja ne postoji u astmi, nasljeđe igra važnu ulogu u toj bolesti. Smatra se da je nasljeđe poligeno (3,4). Povezano je pet genomskih regija – 5q23-31, 12q15-24.1, 16p, 19q13 i 21q21(5), a geni koji bi unutar pojedinih lokusa bili involvirani u osjetljivost prema astmi jesu:

- u 5q31-32: geni za interleukin (IL)-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-12, IL-13, transformirajući faktor rasta (TGF β , engl. *transforming growth factor*), faktor koji stimulira rast makrofagih kolonija CD14, (GM-CSF, engl. *granulocyte macrophage colony stimulating factor*), faktor rasta fibroblasta (engl. *fibroblast growth factor-1*), katenin, glukokortikoidni receptor i β_2 -adrenergički receptor;
- u 6p21-22: geni za kompleks sustava tkivne podudarnosti (HLA, MHC) i faktor tumorske nekroze (TNF- α , engl. *tumor necrosis factor*),
- u 11q13c ϵ R1 i Clara cell secretory protein CC16,
- u 12q: geni za interferon IFN- γ , IGF1, glutation –S-transferazu, sintetazu dušičnog oksida (NOS1), hidrolazu leukotriena A4, ligand selektina P, faktor rasta mastocita (mast cell growth factor),
- u 13q: gen za esterazu D,
- u 14q: gen za kompleks t-limfocitnog receptora (TCR α/γ),
- u 16p: gen za α -lanac IL-4 receptora.

Posljednjih dvadesetak godina bilježi se dramatičan porast prevalencije

astme, što se tumači time da uz genetiku i faktori suvremenog urbanog okoliša igraju važnu ulogu. Aeroaler geni, izloženost duhanskom dimu, mjesto stanovanja, unutarne i vanjske onečišćenje zraka, virusi, domaća i okolišna ekspozicija endotoksinu te imunizacija protiv infekcijskih bolesti, važni su u etiologiji i patogenezi alergijskih bolesti.

ZBIVANJA IN UTERO

Doprinos genetičkih činitelja razvoju astmatskog fenotipa ovisi o interakciji s okolinom, a ekspozicija okolišnim faktorima počinje već začećem, putem majčine krvi.

Tijekom trudnoće postoji poseban odnos majke i ploda u pogledu imunoreaktivnosti. Fetus nosi očeve tkivne antigene pa bi se očekivalo da će majčin imunostav odbaciti plod kao da je presadak stranog tkiva, ali se to ne događa. Objasniti ćemo zašto. U transplantacijskoj su reakciji Th1 limfociti odgovorni za akutno odbacivanje presatka, a Th2 limfociti za glavnu toleranciju (6). Tijekom trudnoće placenta je imunološki aktivno mjesto i u njoj se proizvode mnogi citokini. U intrauterinom okolišu dominira Th2 tip citokina, a oni sprečavaju staničnu imunoreakciju i odbacivanje ploda. T2 tip citokina pogoduje razvoju humoralne imunosti, pa prema tome i alergiji. U doba poroda imunostav fetusa je profila Th2. U majki s atopijskom bolešću to stanje može biti jače izraženo. Ako se krivulja fetalnog imunog razvoja ne vrati u nor-

malan tijekom podražajima koji obnavljaju normalnu ravnotežu Th1/Th2, dijete može postati predisponirano za atopiju (7).

Neonatalne stanice proizvode malo IFN- γ (koji usmjeravaju imunost u pravcu stanične imunosti, Th1) i mnogo citokina tipa Th2 (koji usmjerava prema humoralnoj imunosti). Placenta trudnica koje su sklone abortusu potiče limfocite da izlučuju Th1-citokine IL-2 i IFN- γ (7). Abortus se tumači odbacivanjem ploda zbog majčine imunoreakcije staničnoga tipa na antigene ploda.

RESPIRACIJSKE INFEKCIJE

Jedan od glavnih utjecaja na ravnotežu Th1/Th2 jest izlaganje zaraznim činiteljima u ranoj dobi. Ospice, hepatitis A, tuberkuloza mogu ograničiti pojavu atopije. Respiratorni sincicijski virus (RSV) i virusi koji uzrokuju infekcije donjih dišnih putova povećavaju pojavu piskanja (engl. *wheezing*) i atopije (8). Virusni bronhilitis imitira u djece astmatsko stanje i uzrokuje hiperreaktibilnost bronha (BHR) i piskanje (*wheezing*). U djece je bronhilitis uzrokovan brojnim virusima – RSV-om, virusom parainfluence, koronavirusom, virusom influence i rinovirusom. Više od 70% svih infekcija donjih dišnih putova uzrokuje RSV (9). Gotovo 100% djece inficira se RSV-om u prvih nekoliko godina života, a 66% u prvoj godini života. Od svih infekcija RSV-om, 20% do 40% rezultira kliničkom slikom infekcije donjih dišnih putova, pneumonijom ili bronhilitisom. Nakon početne epizode, 75% hospitaliziranih

bolesnika ima piskanje sljedeće dvije godine, 50% sljedeće tri godine a 40% sljedećih pet godina (9).

Iako neki respiratorni virusi mogu proizvesti dugotrajne posljedice koje imitiraju astmu, infekcije mogu i zaštitno djelovati na razvoj astme. Infekcije potiču proizvodnju citokina tipa Th1, a prema tzv. "higijenskoj hipotezi" suzbijanje infekcija čestom upotrebom antibiotika, vakcinacijom i životom u urbanoj sredini sprečava normalno usmjeravanje imunostava od citokinskog profila Th2 (koji prevladava tijekom intrauterinog života i nakon poroda) prema fenotipu Th1. Ostaje fenotip Th2 koji pogoduje razvoju atopije (5,9).

PATOFIZIOLOGIJA

Razvoj kliničke slike astme rezultat je kompleksnih bioloških interakcija između djelatnosti većeg broja gena (s jednom ili više genetskih varijacija koje pojačavaju osjetljivost) i najmanje jednog okolišnog štetnog činitelja. Reakcija na alergene odvija se putem nekoliko mehanizama koje ćemo opisati (10-15).

Nakon udisanja, alergene prihvaćaju makrofazi koji ih u funkciji stanica koje predočuju antigen (APC, od engl. antigen presenting cells) predočuju limfocitima T. Antigeni se predočuju u sklopu molekula drugog razreda tkivne podudarnosti (MHC-II, od engl. major histocompatibility complex class II, glavni kompleks tkivne podudarnosti). T-limfociti tipa CD4 prepoznaju antigene/alergene pomoću specifičnih T-receptora (TCR, engl. T cell

receptor) te dolazi do diferencijacije i aktivacije pomagačkih (Th) limfocita. Pomagački limfociti tipa Th1 sudjeluju u staničnoj imunosti i pospješuju fagocitozu, a pomagački limfociti tipa Th2 sudjeluju u humoralnoj imunosti koja štiti od izvanstaničnih parazita i mikroorganizama. Također sudjeluju u razvoju alergijske preosjetljivosti tako što potiču stvaranje imunoglobulina E (16).

Postojanje Th2 limfocita specifičnih za alergene u osoba s alergijskom astmom smatra se glavnim uzrokom povišene razine IgE u serumu. Za sintezu IgE potreban je IL-4 te kontakt limfocita T i B koji se ostvaruje interakcijom molekule CD40 i njezinog liganda CD40L. U regulaciji sinteze IgE važnu ulogu ima receptor niskog afiniteta za IgE, FcεRII/CD23, a sudjeluju i receptori CD23-CD21 na B-limfocitima. Niskoafinitetni receptori (CD23) koje izražavaju B-limfociti dobro koreliraju s aktiviranim T-limfocitima, što je (uz povišenu razinu CD4) jedna od karakteristika ekstrinzične (alergijske) astme. Tako se ona (u imunološkom smislu) razlikuje od intrinzične (nealergijske) astme, u kojoj je povišena razina IL-2, IFN-γ, IL-5 i IgG4 a smanjena razina CD8 limfocita (12,17).

Ponovni kontakt alergena i IgE antitijela na membrani mastocita dovodi za nekoliko minuta do izlučivanja histamina, leukotriena i prostaglandina što rezultira akutnom bronhokonstrikcijom (18). Ti su medijatori karakteristični za ranu alergijsku reakciju tipa I i odgovorni su za edem sluznice, hipersekreciju i akutni spazam glatkih mišića bronha. Unutar nekoliko sati nakon kontakta dolazi do

kasne alergijske reakcije u kojoj upalne stanice (eozinofili, limfociti) migriraju u šokno tkivo i pokreću kroničnu upalu. Važnu ulogu igraju i citokini tipa Th2, kemokini, neurogena aktivacija, adenzin, metaloproteinaze matriksa i drugi činitelji (16,17,19-21).

EOZINOFILI

Među upalnim stanicama eozinofili imaju ključnu ulogu u razvoju upale dišnih putova u astmi. Zato je eozinofilija najvažniji nalaz u astmi i ima centralno značenje u njenoj patofiziologiji. Poznato je da povećanje broja eozinofila u perifernoj krvi, sputumu i tkivima često prati alergijske i nealergijske astmatske napadaje (10). Eozinofili proizvode bronhokonstriktorske činitelje, leukotrien C4 i faktor aktivacije trombocita (PAF, od engl. platelet activating factor), pa se stupanj krvne eozinofilije povezuje s težinom astme (11). Eozinofili izlučuju različite medijatore koji već nalaze u njihovim granulama ili nastaju u času reakcije.

Oko šest sati nakon izlaganja alergenu u krvi se zapaža prolazna eozinopenija, a uskoro slijedi progresivna eozinofilija sve do 24 sata nakon izlaganja (12). Eozinopenija se objašnjava selektivnom mobilizacijom eozinofila u dišne putove i zadržavanjem u plućnom tkivu, a u pozitivnoj je korelaciji sa jačinom alergijske reakcije.

Eozinofilija se pripisuje otpuštanju eozinofila iz retikuloendotelnog sustava pod utjecajem citokina, osobito interleukina IL-5 koji utječe na eozinofilnu dife-

rencijaciju i degranulaciju. Djelovanjem alergena oslobađaju se različiti medijatori koji potiču stvaranje eozinofila, primjerice GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*), IL-3, IL-5 i faktori koji se oslobađaju iz epitelnih stanica (13). IL-5 je selektivni eozinofilni kemotaktični factor i utječe na eozinofilnu diferencijaciju i degranulaciju, pomaže sazrijevanje eozinofila i produžuje im život. Postoji signifikantna korelacija između broja stanica koje izražavaju mRNA za IL-4, IL-5 i GM-CSF i stupnja bronhalne preosjetljivosti. Iz toga proizlazi zaključak da navedeni citokini doprinose upali dišnih putova i težini kliničke slike. mRNA za IL-4 i IL-5 izražava se u CD4+ T-limfociti tipa Th2. T-limfociti igraju važnu ulogu u kasnom astmatskom odgovoru.

Osim same eozinofilije, važna je i aktivacija eozinofilnih leukocita. U aktivaciju su uključeni isti citokini koji dovode do eozinofilije – IL-5, GM-CSF i IL-3. Potiču stvaranje eozinofila niske gustoće (manje od 1,093 g/mL), a to su aktivirani eozinofili. Oni imaju povećan potrošak kisika, pojačanu fagocitozu i jaču citotoksičnu aktivnost te veću sposobnost oslobađanja aktivnih produkata iz granula. Izlučuju niz lipidnih medijatora upale (PAF, LTB₄, LTC₄). Aktivirani eozinofili otpuštaju svoje granule koje su odgovorne za citotoksičnost i signifikantno koreliraju s kliničkim simptomima astme (16).

Među medijatorima koji se oslobađaju iz eozinofilnih granula važne zadaće ima glavni bazični protein (MBP, od engl. *major basic protein*) koji oštećuje

parazite, ali i sluznicu dišnih putova. Ima sposobnost aktivacije bazofila, mastocita, neutrofila i trombocita. Jedan od mehanizama kojim MBP uzrokuje bronhalnu hiperreaktibilnost jest onemogućavanje inhibitorynog receptora M2 na kolinergičkim vlaknima (13).

U eozinofilnim se granulama osim MBP nalaze i drugi toksični proteini: eozinofilni kationski protein (eosinophil cationic protein, ECP), eozinofilna peroksidaza (*eosinophil peroxidase*, EPO) i mijeloperoksidaza (myeloperoxidase, MPO), neurotoksin podrijetlom iz eozinofila (*eosinophil derived neurotoxin*, EDN), te eozinofilni protein X (*eosinophil protein X*, EPX). Među njima je ponajvažniji MBP koji je toksičan za respiracijski epitel u djece s astmom, a može se u povećanoj količini dokazati u sputumu. Glavni su mu učinci ograničavanje ciliarne funkcije, povećavanje propusnosti krvnih žila i poticanje eksudacije (19).

Eozinofiliju bronho-alveolarnog ispirka (BAL-a) regulira ekspresija adhezijskih molekula – međustanične adhezijske molekule 1 (ICAM-1, od engl. *intracellular cell adhesion molecule 1*) limfocitnog funkcijskog antigena 3 (LFA-3, od engl. *lymphocyte function antigen 3*) i molekula glavnog sustava tkivne podudarnosti (HLA II, *human leucocyte antigen II*). Te membranske strukture omogućuju stanično-stanični kontakt s T-limfocitima.

Imunoglobulini djeluju na degranulaciju eozinofila, a u tom je pogledu najučinkovitiji sekretorni IgA (18). Eozinofili mogu otpuštati lipidne medijatore koji mogu stimulirati ili

inhibirati otpuštanje sluzi iz dišnih putova. U eozinofilima se nalaze i Charcot-Leydenovi kristali, proteini koji imaju lizofosfolipaznu djelatnost. Oni imaju osobine ubilačkih stanica premda djeluju inhibitory na prirodno ubilačke stanice (NK, *natural killer cells*). Eozinofili izražavaju β^2 -adrenergičke receptore koji su funkcionalno aktivni, ali njihova aktivacija ne utječe na degranulaciju eozinofila i na oslobađanje aktivnih tvari koje mogu oštetiti respiracijski epitel, što je nepoželjno kod astme (14).

Možemo zaključiti da eozinofili oštećuju okolno tkivo sastojcima svojih granula, a k tome proizvode faktore koji izazivaju bronhokonstrikciju, kemotaksiju, povećanu propusnost i dilataciju krvnih žila. Tako višestruko pokreću astmatski proces. S obzirom na tu bitnu ulogu eozinofila, upala u astmi naziva se "kroničnim deskvamativnim eozinofilnim bronhitisom".

LIMFOCITI

Limfociti su upalne efektorske stanice koje infiltriraju bronhalnu stijenku pa također sudjeluju u patofiziologiji astme. Uloga B-limfocita jest proizvodnja specifičnih IgE antitijela, a za regulaciju proizvodnje tih imunoglobulina važan je receptor za IgE na B-limfocitima – Fc ϵ RII.

Proizvodnju IgE antitijela u reakcijama preosjetljivosti ranog tipa reguliraju T-limfociti. T-limfociti koji izlučuju kemokine IL-4 i IL-5 pojačavaju proizvodnju IgE u B-limfocitima. S druge strane, IFN- γ

ograničava sintezu IgE (22). U bronhoalveolarnom ispirku (BAL-u) bolesnika od astme smanjen je broj CD4⁺ T-limfocita a povećan broj CD8⁺ T-limfocita. To bi ukazivalo da postoji selektivna mobilizacija CD8 limfocita u dišne putove i njihovo supresorsko djelovanje na reakciju pobuđenu alergenom. U bolesnika koji imaju akutni teški napadaj astme ("status asthmaticus") prisutno je povećanje aktiviranih T-limfocita, udruženo s porastom razine IFN- γ i solubilnog IL-2 receptora (CD25) (23).

CD4⁺ TH-LIMFOCITI U ASTMI

Th1 i Th2-limfociti potječu iz prekursora T-stanica čija diferencijacija u Th1 i Th2-stanice ovisi o interakciji s mikrookolišem. Citokini tipa Th1 jesu IFN- γ , TNF- α , TNF- β , IL-2, i IL-12. Citokini tipa Th2 jesu IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13.

Alergen-specifični CD4⁺ T-limfociti alergičnih osoba pripadaju citokinskom profilu tipa Th2 i proizvode prvenstveno IL-4, IL-13 i IL-5, a vrlo malo ili ništa IFN- γ . U zdravih osoba također postoje alergen-specifični CD4⁺ T-limfociti, ali to su stanice citokinskog profila Th1 i proizvode IFN- γ i TNF- α . Ako stanice koje predočuju antigen (APC) predočuju alergen prekursorima naivnih T-stanica u prisutnosti IL-12, imunoreakcija će se usmjeriti prema Th1. Na razvoj Th2 fenotipa utječe pak IL-4. Nije posve jasno što određuje hoće li u imunostavu prevladati IL-12 ili IL-4 (15). Endotoksin, virusi, intracelularni mikroorganizmi

(legionele i mikoplazme) mogu potaknuti proizvodnju IL-12 i skretanje prema fenotipu Th1.

Misli se da je koncentracija antigena također važna. Izlaganje malim dozama antigena usmjerava imunostav prema fenotipu Th1, a izlaganje većim dozama alergena (inhalacijskim ili nutritivnim) povećava razinu IL-4 i usmjerava prema fenotipu Th2 (15).

CD4⁺ Th2 limfociti iniciraju i podržavaju astmu, premda čine mali postotak ukupnog broja leukocita u plućima. U osoba koje boluju od astme njihov je broj povećan i ti CD4⁺ limfociti izražavaju aktivacijske biljege CD25 i MHC-II. CD4⁺ Th2-limfociti sudjeluju u upalnom odgovoru i remodelaciji dišnih putova proizvodeći citokine. Svaki citokin ima sebi svojstven funkcionalni učinak u indukciji bolesti, a u patofiziologiji astme predominantan je IL-13 (24).

U BAL-u bolesnika od astme povećana je razina IL-4, IL-5 i IL-13, a CD4⁺ T-limfociti pojačano izražavaju transkripcijski factor GATA-3 (koji je neophodan za proizvodnju IL-5). Kad se Th2 limfociti u dišnim putovima aktiviraju inhalacijskim alergenom mogu pokrenuti akutnu alergijsku upalu s eozinofilijom, BHR i pojačanim stvaranjem sluzi. Prekomjerna proizvodnja IL-13, IL-9 i IL-5 u osoba koje boluju od astme ukazuje da kronično izlaganje Th2 citokinima može inducirati remodelaciju dišnih putova (25).

Ekspozicija alergenima oštećuje epitel bronha te alergeni bolje prodiru do sluzničkih makrofaga tj. do stanica

koje predočuju antigene/alergene (APC). Oštećeni respiracijski epitel proizvodi GM-CSF koji potiče dozrijevanje dendritičkih stanica (DC). Broj aktiviranih DC u lumenu bronha povećava se i one pojačano izražavaju MHC II. Aktivaciju CD pobuđuje GM-CSF i interakcija s aktiviranim T-limfocitima preko kostimulacijskih molekula (CD40/CD40L) (24).

CD4⁺ Th1-limfociti sa svojim vodećim citokinom IFN- γ pojačano su prisutni u BAL-u za vrijeme akutne egzacerbacije astme. Aktivacija Th1-limfocita inhaliranim antigenom uzrokuje u respiracijskom traktu predominantan neutrofilni upalni odgovor s metaplazijom mukoznih stanica ili hiperreaktabilnošću bronha (BHR). Brojne studije pokazuju da IFN- γ ograničava eozinofiliju induciranu Th2-aktivnošću te proizvodnju sluzi i BHR (26). Virusne infekcije koje obično aktiviraju CD4 i CD8 limfocite da proizvode IFN- γ egzacerbiraju astmu. Budući da CD4⁺ Th1-limfociti mogu pojačati i aktivirati Th2-limfocite u odsutnosti specifičnog antigena, to je mogući mehanizam pojačavanja alergijske upale.

ADENOZIN

Adenozin nastaje defosforilacijom adenin-nukleotida iz oštećenih upalnih stanica. U astmi je povišena razina adenozina u cirkulaciji i u dišnim putovima. Inducira bronhokonstrikciju u bolesnika od astme, ali ne u zdravih osoba. Adenozin se metabolizira pomoću adenozin-deaminaze (ADA) ili adenozin-

kinaze. IL-13 inducira povećanje razine adenzina i smanjenje aktivnosti ADA, a kada se smanji razina ADA dolazi do povećanja razine adenzina. Dokazalo se da adenzin iz upalnih i oštećenih epitalnih stanica stimulira izlučivanje IL-13, a IL-13 stimulira stvaranje adenzina (27,28).

MONOCITNI KEMOTAKSIJSKI PROTEIN-1 (MONOCYTE CHEMOTACTIC PROTEIN-1, MPC-1)

Monocitni kemotaksijski protein-1 uključen je u upalne događaje u astmi kao i u remodelaciju dišnih putova. Proizvode ga epitelne stanice, makrofazi i glatkomišićne stanice bronha. Adenzin putem A2B receptora potiče izlučivanje MPC-1 iz glatkomišićnih stanica bronha, a to može biti i put kojim IL-13 podiže razinu MPC-1 (29). Novije studije pokazuju da MPC-1 pomaže diferencijaciju Th2-stanica, podiže razinu IL-13, stimulira izlučivanje TGF- β 1 iz makrofaga i fibroblasta i sudjeluje u fibrozi dišnih putova (29).

METALOPROTEINAZE MEĐUSTANIČNOG MATRIKSA (MATRIX METALLOPROTEINASES, MMPS)

Ti enzimi pripadaju velikoj obitelji proteinaza. Povišena im je razina u krvi, BAL-u i sputumu bolesnika s astmom, a sudjeluju u remodelaciji dišnih putova.

Imaju bitnu ulogu u migraciji leukocita iz vaskularnih prostora prema mjestu upale. Kategoriziraju se prema tipu molekula, a razvrstavanje uključuje kolagenaze, gelatinaze i stromolizaze. MMP2 (kolagenaza A), MMP3 (stromolizin 1), MMP9 (gelatinaza B), i MMP12 (metaloelastaza) povišene su u astmi, a među njima prevladava MMP9. U plućima se MMP9 proizvodi u neutrofilima, makrofazima, eozinofilima, limfocitima, mastocitima i dendritičkim stanicama (DC). Aktivirane epitelne stanice, fibroblasti, endotelne stanice i stanice glatkih mišića proizvode metaloproteinazu MMP9 koja sudjeluje u razvoju subepitelne fibroze. MMP12 također potiče subepitelnu fibrozu i eozinofiliju u dišnom traktu.

Enzim ADAM (od engl. adisintegrin and metalloproteinase) sastavljen je od dviju funkcionalnih jedinica - od dizintegrina koji pojačava staničnu adheziju i od metaloproteinaze koja pojačava vezanje citokina za staničnu membranu. Nedavna su istraživanja pokazala povezanost ADAM33 s hiperreaktabilnošću bronha (BHR) i astmom. Ekspresija ADAM33 na glatkim mišićnim stanicama, fibroblastima i miofibroblastima bronha (ali ne i na T-limfocitima ili ostalim upalnim stanicama) pokazuje da ADAM33 ima ulogu u remodelaciji dišnih putova. Pretpostavlja se da mutacija gena za ADAM33 može utjecati na njegovu funkciju ili koncentraciju (30,31).

Metaloproteinaze igraju multiplu ulogu kako u upali, tako i u remodelaciji tako što utječu na leukocitnu aktivaciju, na upalne medijatore i na fibrozu dišnih putova (31).

OŠTEĆENJE I AKTIVACIJA EPITELA

U astmi je oštećen epitel dišnih putova. Odljuštene epitelne stanice nalazimo u sputumu a komadiće ogoljele sluznice u bioptičkom materijalu. Aktivacija epitela pojačava izlučivanje sluzi iz cilindričnih stanica i ekspresiju gena koji su uključeni u sekreciju (20). Epitelno oštećenje i aktivacija mogu djelomično biti rezultat kroničnog upalnog podražaja, ali nije razjašnjeno oštećuju li epitel Th2 citokini, eozinofili, virusne i bakterijske infekcije prije nego se razvije astma. U vrijeme kada se astma dijagnosticira epitel je već preplavljen upalnim medijatorima iz eozinofila, mastocita i limfocita koji pojačavaju otpuštanje citokina i oštećuju epitel. U osoba koje boluju od astme bronhalni epitel pojačano izlučuje IL-8 i GM-CSF. IL-8 potiče migraciju neutrofila i poboljšava njihovo preživljavanje, a GM-CSF aktivira dendritičke stanice i makrofage i poboljšava preživljavanje eozinofila (32). IL-13 usporava kretanje cilija i dovodi do ljuštenja cilijarnih stanica. Smanjuje se mukocilijarno čišćenje dišnih putova što uz povećanu proizvodnju sluzi rezultira zaostajanjem sluzi, kašljem i opstrukcijom bronha.

Interakcijom epitela s glatkim mišićnim stanicama i fibroblastima nastaju snažni međusobni signali koji aktiviraju upalne, epitelne i mezenhimalne stanice i pobuđuju izlučivanje upalnih medijatora. To se zbiva u respiratornom traktu ali zahvaća i druge organe uključivši koštanu srž i slezenu što dovodi do promjena u perifernoj krvi.

NEUROTRANSMITERI

Neurotransmiteri su također uključeni u alergijsku reakciju i sudjeluju u neurogenoj upali. Osim klasičnih neurotransmitera poput acetilkolina (koji pobuđuje glandularnu sekreciju) i noradrenalina (koji potiče vazokonstrikciju) identificirani su u centralnim i perifernim neuronima i neadrenergički-nekolinergički neurotransmiteri (non-adrenergic, non-cholinergic neurotransmitters, NANC). To su neuropeptidi. Osjetne C-niti sadrže tvar P (substance P, SP), neurokinin A (NKA) i peptid srodan calcitoninu (calcitonin gene-related peptide, CGRP). Ti medijatori mogu sudjelovati u vazodilataciji i ekstravazaciji plazme te u neurogenoj upali putem nervne aktivacije mastocita.

Glavni, osnovni mehanizam astme ne temelji se na bronhospazmu, edemu i hipersekreciji, kako se prije mislilo, već ključnu ulogu ima upala sa složenom interakcijom upalnih stanica, proupalnih medijatora, citokina i neuropeptida. Ti faktori uzrokuju perzistentnu inflamaciju, koja dovodi do remodelacije dišnih putova (33).

REMODELACIJA DIŠNIH PUTOVA

U astmi su dišni putovi infiltrirani mastocitima, makrofazima, CD4⁺ T-limfocitima, eozinofilima, plazma-stanicama i neutrofilima. U lumenu dišnih putova sluz je pomiješana s aktiviranim makrofazima, limfocitima, eozinofilima i odljuštenim epitelnim stanicama. U težim oblicima bolesti povišen je i broj neutrofila.

Strukturne promjene bronha, nazvane remodelacijom dišnih putova mogu biti rezultat interakcije upalnih medijatora sa stanicama strome. Odebljanje bronhalnog zida za 10% do 300% od normale smanjuje promjer bronha. Tome ponajviše doprinose upalne stanice, a vidljiva je i hipertrofija i metaplazija stanica koje proizvode sluz 34. Zahvaćeni su mali dišni putovi (promjera 2 – 4 mm), osobito u težim oblicima bolesti. Subepitelni sloj koji je u zdravih osoba debeo 4 – 5 mikrona odeblja u djece koja boluju od astme na 7 – 23 mikrona. Tome je razlog odlaganje kolagena tipa I, III i V, fibronektina i tenascina ispod bazalne membrane u lamini retikularis (35). Međustanični matriks sadrži više proteoglikana i glikozaminoglikana, uključujući hijaluronan. Hiperplastični su miofibroblasti koji proizvode kolagen, a mišićna je masa trostruko veća nego normalno, poglavito zbog stanične hiperplazije. Također postoji vaskularna dilatacija i angiogeneza, povećana vaskularna permeabilnost i edem bronhalne sluznice (20).

Remodelacija dišnih putova i upala rezultiraju bronhalnom hiperreaktabilnošću (BHR) i bronhoopstrukcijom što otežava ekspirij i uzrokuje piskanje (*wheezing*). BHR se definira kao pojačan bronhokonstriksijski odgovor na nespecifične podražaje i katkada se naziva spazmom bronha (20). Intenzitet BHR srazmjern je jačini upale dišnih putova. Doprinosu mu brojni činitelji – sužen promjer bronha, povećana kontraktilnost bronhalnih glatkih mišića, oštećenje epitela, disfunkcija nervne regulacije, porast mikrovaskularne

permeabilnosti i mnogi upalni medijatori. Strukturne promjene koje dovode do suženja bronha sa skupljanjem sluzi i upalnih stanica u njihovom lumenu povećavaju konstrikciju glatkih mišića što rezultira bronhoopstrukcijom.

Upala i strukturne promjene dišnih putova (utvrđene pomoću biopsije bronhalne sluznice) počinju dvije godine prije nego simptomi astme postanu manifestni (21). Vjeruje se da simptomi bronhoopstrukcije i piskanja postaju uočljivi tek kada remodelacija dosegne kritični stupanj. U razdoblju dok nema simptoma u bronhoalveolarnom je ispirku (BAL-u) povećan broj eozinofila, što znači da bolest treba smatrati asimptomatskom a ne stanjem remisije. Rana intervencija protuupalnim lijekovima može ograničiti bolest, ali se astma rijetko prepoznaje prije pojave karakterističnih simptoma i znakova (36). Nemoguće je odrediti početni korak efektorske reakcije koji uzrokuje upalu i remodelaciju. Znamo da u astmi bitnu ulogu imaju Th2-limfociti, ali nije jasno kada astma počinje.

ZAKLJUČAK

Astma je programirani odgovor dišnih putova za koji su potrebni kako T-limfociti, tako i specifične značajke domaćina pa tek njihovom interakcijom dolazi do razvoja bolesti. Značajke domaćina kreću se u rasponu od signalnih molekula i transkripcijskih faktora do efektorskih citokina i stanica. Svi ti čimbenici dovode do uspostavljanja nepopustljive memorijske reakcije u dišnim

putovima. Očekivali bismo da će smanjivanje upale s vremenom ograničiti bolest, ali u etabliranoj su astmi reakcije domaćina poremećene. U bolesnika koji su liječeni kortikosteroidima smanjila se infiltracija dišnih putova upalnim stanicama kao i izlučivanje citokina, ali tretman nije utjecao na razinu TGF- β i depoziciju kolagena (23). U toj bolesti dakle uspostavljanje kontrole nad upalnim stanicama ne znači da je postignuta i kontrola nad profibrotičkim procesom. Zato se bolest ne smiruje unatoč protuupalnom liječenju.

U ovom kratkom pregledu nastojalo se objasniti kako i zašto u bolesnika od astme cijelo vrijeme persistiraju CD4⁺ Th2-limfociti, upala i remodelacija. Tim se činiteljima pripisuje kroničnost astme.

Astma je ozbiljna i česta bolest koju rijetko možemo izliječiti, eventualno je možemo samo kontrolirati. Ali za bolesnike koji imaju teške oblike astme što se ne mogu kontrolirati uobičajenim protuupalnim terapijskim sredstvima moramo istraživati djelovanje navedenih činitelja i nove mogućnosti liječenja. Ključ rješenja mogao bi se naći u razumijevanju sastavnica koje podržavaju i pojačavaju persistentnu upalu dišnih putova i njihove strukturne promjene.

LITERATURA

1. American Thoracic Society. Proceedings of the ATS workshop on refractory asthma: current understanding, recommendations, and unanswered questions. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:2341-51.
2. Koppelman G, Los H, Postma D. Genetic and environment in asthma: the answer of twin studies. *Eur Respir J*. 1999;13:2-4.
3. Sandford A, Weir T, Pare P. The genetics of asthma. *Am J Respirat Crit Care Med* 1996;103:175-83.
4. Los H, Koppelman G, Postma D. The importance of genetic influences in asthma. *Eur Respir J*. 1999;14:1210-27.
5. Ober C, Cox N, Abney M, et al. Genome-wide search for asthma susceptibility loci in a founder population. *Hum Mol Genet* 1998;7(9):1393-98.
6. Kishimoto K, Dong VM, Issazadeh S, et al. The role of CD154-CD40 versus CD28-B7 costimulatory pathways in regulating allogenic Th1 and Th2-responses in vivo. *J Clin Invest* 2000;106(1):63-72.
7. Mellor AL, Munn DH. Immunology at the maternal-fetal interface: lessons for T cell tolerance and suppression. *Annu Rev Immunol* 2000;18:367-9.
8. Alm JS, Swartz J, Lilja G, et al. Atopy in children of families with anthroposophic lifestyle. *Lancet* 1999;353:1485-88.
9. Gern J, Lemanske RF Jr, Busse W. Early life origins of asthma. *J Clin Invest* 1999;104(7):837-43.
10. Gleich GJ, Adolphson CR, Leiferman KM. The biology of the eosinophilic leukocyte. *Ann Rev Med* 1993;44:85-101.
11. Lundgren JD, Davey JD, Lundgren B, Mullol J, Marow Z et al. Eosinophil cationic protein stimulates and major basic protein inhibits airway mucus secretion. *J Allergy Clin Immunol* 1991;87:689-98.
12. Bruijnzeel-Koomen C, Storz E, Menz G, Bruijnzeel P. Skin eosinophilia in patients with allergic and nonallergic asthma, and atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1992;89:52-9.
13. Seminario MC, Gleich GJ. The role of eosinophils in the pathogenesis of asthma. *Curr Opin Immunol* 1994;6:860-4.
14. Yukawa Z, Ukena D, Kroegel C, Chanez P, Dent G, Chung FK, Barnes PJ. Beta 2 adrenergic receptors on eosinophils. *Am Rev Respirat Dis* 1990;141:1446-52.
15. Maddox L, Schwartz DA. The pathophysiol-

- ogy of asthma. *Annu Rev Med* 2002;53:477-98.
16. Pim I, Radford S, Kolendowicz R, Jennings B, Denburg DA, Hargreave FE, Dolovich J. Airway inflammation in symptomatic and asymptomatic children with methacholine hyperresponsiveness. *Eur Respir J* 1993;6:1249-56.
 17. Walker C, Virchow JC, Jr. T-cells and endothelial cells in asthma. *Allergy* 1993;48:24-31.
 18. Carlson M, Hakamsson I, Kampe M, Stelentheim G, Paterson C, Venge P. Degranulation of eosinophils from pollen-atopic patients with asthma is increased during pollen season. *J Allergy Clin Immunol* 1992;89:131-9.
 19. Kay AB. Asthma and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 1991;87:893-906.
 20. Cohn L, Elias JA, Chupp GL. Asthma: mechanisms of disease persistence and progression. *Annu Rev Immunol* 2004;22:789-815.
 21. Pohunek P, Roche WR, Trzikova J, Kurdmann J, Warner JO. Eosinophilic inflammation in the bronchial asthma. *Eur Respir J* 2000; 11:160s.
 22. Đukanović R, Roche WR, Wilson JW, Beasley OP, Twentyman OP, Howarth PH, Holgate ST. Mucosal inflammation in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990;142:434-57.
 23. Sheffer AL, Fink JN. Asthma ž90. Immunopharmacologic update. *J Allergy Clin Immunol* 1991;88:303-21.
 24. Elias JA, Lee CG, Zheng T, Ma B, Homer RJ, Zhu Z. New insights into the pathogenesis of asthma. *J Clin Invest* 2003;111:291-97.
 25. Chakir J, Shannon J, Molet S, Fukakusa M, Elias J, et al. Airway remodeling-associated mediators in moderate to severe asthma: effect of steroids on TGF- β , IL-11, IL-17, and type I and type III collagen expression. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:1293-98.
 26. Huang TJ, MacAry PA, Eynott P, Mousavi A, Daniel KC, et al. Allergen specific Th1 cells counteract efferent Th2-cell dependent bronchial hyperresponsiveness and eosinophilic inflammation partly via INF- γ . *J Immunol* 2001;166:207-17.
 27. Flood-Page PT, Menzies-Gow AN, Kay AB, Robinson DS. Eosinophil's role remains uncertain as anti-interleukin-5 only partially depletes numbers in asthmatic airway. *Am Respir Crit Care Med* 2003;167:199-204.
 28. Blackburn MR, Lee CG, Young HW, Zhu Z, Chunn JL, et al. Adenosine mediates IL-13-induced inflammation and remodeling in the lung and interacts in an IL-13-adenosine amplification pathway. *J Clin Invest* 2003;112:332-44.
 29. Zhu Z, Ma B, Zheng T, Homer RJ, Zhu Z, Lee CG et al. IL-13 induced chemokine responses in the lung: role of CCR2 in th pathogenesis of IL-13- induced inflammation and remodeling. *J Immunol* 2002;168:2953-62.
 30. Shapiro SD, Owen CA. ADAM-33 surfaces as an asthma gene. *N Engl J Med* 2002;347:936-38.
 31. Van Eerdewegh P, Little RD, Dupuis J, Del Mastro RG, Falls K et al. Association of the ADAM33 gene with asthma and bronchial hyperresponsiveness. *Nature* 2002;418:426-30.
 32. Vliagoftis H, Befus AD, Hollenberg MD, Moqbel R. Airway epithelial cells release eosinophil survival-promoting factors (GM-CSF) after stimulation of proteinase-activated receptor. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:679-85.
 33. Hoshino M, Nakamura Y, Sim JJ. Expression of growth factors and remodeling of the airway wall in bronchial asthma. *Thorax* 1998;53, 21-27.
 34. Homer RJ, Elias JA. Consequences of long-term inflammation. Airway remodeling. *Clin Chest Med* 2000;21:331-43.
 35. Roche WR, Beasley R, Williams JH, Golgate ST. Subepithelial fibrosis in the bronchi of asthmatics. *Lancet* 1989;1:520-24.
 36. Warke TJ, Fitch PS, Brown V, Taylor R, Lyons JD, et al. Outgrown asthma does not mean no airways inflammation. *Eur Respir J* 2002; 19:1267-72.