Imunološke karakteristike kronične opstruktivne plućne bolesti

Nedeljković, Vanja

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:413208

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**



Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Vanja Nedeljković

Imunološke karakteristike kronične opstruktivne plućne bolesti

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2018.

Ovaj diplomski rad izrađen je na Klinici za plućne bolesti Jordanovac

Kliničkog bolničkog centra Zagreb

pod vodstvom prof.dr.sc. Mirolava Samaržije

i predan je na ocjenjivanje u akademskoj godini 2017./2018.

POPIS KRATICA

KOPB – kronično opstruktivna plućna bolest

GOLD - Globalna inicijativa za kroničnu opstrukcijsku plućnu bolest (eng. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease)

PAMP – molekularni obrasci patogenih mikroorganizama (eng. Pathogen-Associated Molecular Patterns)

DAMP – molekularni obrasci povezani s oštećenjem tkiva (eng. Damage-Associated Molecular Patterns)

IL-1 – interleukin 1

IL-18 – interleukin 18

HSP – bjelančevine toplinskog šoka (eng. Heat Shock Proteins)

HMGB1 – eng. High-Mobility Group Box1

DNA – deoksiribonukleinska kiselina

RNA – ribonukleinska kiselina

NOD – eng. Nucleotide-Binding Oligomerization Domain

NLR – receptori slični NOD-u (eng. NOD-Like Receptors)

RIG – eng. Retionic Acid-Inducible Gene

RLR – receptori slični RIG-u (eng. RIG-Like Receptors)

LPS – lipopolisaharid

PRR – eng. Pattern Recognition Receptors

TLR – receptori slični Toll-u (eng. Toll-Like Receptors)

NLR – receptori slični NOD-U (eng. NOD-like receptors)

RLR – receptori slični RIG-u (eng. RIG-like receptors)

ATP – adenozin-tri-fosfat

RAGE – eng. Receptor for Advanced Glycation End-products

Egr-1 – (eng. early growth response)

NF-κB – nuclear factor kappa-light chain-enhancer of activated B cells

STAT4 - Signal transducer and activator of transcription 4

TNFα - Tumor necrosis factor α

CXCL-8 - C-X-C Motif Chemokine Ligand 8

MMP – matriks metaloproteinaze

TGF-α – Transforming growth factor alpha

CXCL10 - C-X-C Motif Chemokine Ligand 10

G-CSF – granulocitni faktor rasta (eng. Granulocyte-Colony Stimulating Factor)

GM-CSF – Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor

Treg – Regulatory T cells

TGF β - Transforming growth factor *beta*

FOXP3 - forkhead box P3

mRNA – Messenger RNA

iBALT - *Inducible bronchus-associated lymphoid tissue*

BAFF - B-cell activating factoR

CCL19 - Chemokine (C-C motif) ligand 19

CCL21 - Chemokine (C-C motif) ligand 21

CCR7 - C-C chemokine receptor type 7

CXCL13 - chemokine (C-X-C motif) ligand 13

CXC5 - C-X-C chemokine receptor type 5

SADRŽAJ

Sažetak……...i

Summary……ii

Uvod……1

Urođeni imunosni odgovor ……..……3

Prepoznavanje sastavnica mikroorganizama i oštećenih vlastitih stanica……4

Stanični receptori za prepoznavanje molekularnih obrazaca……..…6

Patofiziološki mehanizam i imunološka reakcija u dišnom traktu……...…8

Dendritičke stanice kao poveznica urođenog i stečenog imunološkog odgovora…….…12

Stečeni imunosni odgovor…….……16

Uloga CD8+ T stanica……16

Uloga CD4+ T stanica…….…..17

Uloga Treg stanica…….……..……....18

Uloga B-stanica……..……18

Uloga reaktivnih kisikovih spojeva u upali kod KOPB-a……...……..20

Literatura……..……..21

Životopis…….27

Sažetak

Naslov: Imunološke karakteristike kronične opstruktivne plućne bolesti

Incidencija kronične opstruktivne plućne bolesti (KOPB) je u porastu i smatra se trećim vodećim uzrokom smrtnosti u svijetu što predstavlja globalni zdravstveni problem. U većini slučajeva uzrokovana je djelovanjem štetnih sastavnica cigaretnog dima, a karakterizira ju djelomično reverzibilna, ali progresivna opstrukcija dišnih putova koja se pogoršava egzacerbacijama. Strukturne i upalne stanice urođene i stečene imunosti u respiratornom traktu na cigaretni dim i druge iritanse reagiraju oslobađanjem medijatora upale kao što su IL1, IL6, IL8 i TNFα koji regrutiraju dodatne upalne stanice kao CD8+ i CD4+ T stanice, te orkestriraju urođenim i stečenim imunosnim reakcijama. KOPB je obilježen opsežnom imunosnom disfunkcijom koja dovodi do egzacerbacija i progresije bolesti, a posljedično i smanjenju kvalitete života.

Ključne riječi: KOPB, urođena imunost, stečena imunost, imunosna disfunkcija

Summary

Title: Immunological aspects of chronic obstructive pulmonary disease

The incidence of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is in increase and is considered to be the third leading cause of death worldwide, representing a global health problem. Most common cause of COPD is cigarette smoke, and is characterized by its partially reversible but progressive obstruction of the respiratory tract that aggravates exacerbations. Structural and inflammatory cells of innate and adaptive immune responses in the respiratory tract, react to cigarette smoke and other irritants, by releasing inflammatory mediators such as IL1, IL6, IL8 and TNFα which recruit additional inflammatory cells such as CD8 + and CD4 + T cells, and orchestrate innate and adaptive immune responses. COPD is characterized by extensive immune dysfunction which leads to exacerbation and progression of the disease, and consequently to the reduction of the quality of life.

Keywords: COPD, innate immunity, adaptive immunity, immune disfunction

Uvod

Kronična opstruktivna plućna bolest (KOPB) pogađa više od 200 milijuna ljudi diljem svijeta i smatra se trećim vodećim uzrokom smrtnosti u svijetu (1). Pušenje cigareta smatra se glavnim čimbenikom rizika za razvoj KOPB-a, ali se bolest razvija samo kod 20 do 40% pušača, podjednako kod muškaraca i žena (2,3,5). Kao ostali razlozi obolijevanja navodi se i izloženost štetnim plinovima i tvarima u kućanstvu i na radnome mjestu, pasivna izloženost duhanskom dimu, genetska predispozicija, okolišni faktori, česte respiratorne infekcije u anamnezi, tuberkuloza pluća te socioekonomski status (2,3,5,6).

Bolest je upalne etiologije, a karakterizira ju djelomično reverzibilna, ali progresivna opstrukcija dišnih putova koja se pogoršava akutnim egzacerbacijama (2,3). Kompleksna patofiziološka interakcija nekoliko mehanizama dovodi do razaranja alveolarnih septa, remodeliranja stanične stijenke dišnih puteva s posljedičnom limitiranošću zračne provodnosti te povećanjem ukupnog zračnog prostora (2,3,5,6). Razvoj KOPB-a događa se zbog brojnih mehanizama koji ne djeluju svaki zasebno, već se snažno isprepliću i utječu jedan na drugoga. Predložena zbivanja uključuju:

- Razvoj prekomjernog kroničnog upalnog odgovora u plućima kao odgovor imunološkog sustava na dugotrajno izlaganje i udisanje cigaretnog dima i drugih toksičnih agensa udahnutog zraka kod pušača u odnosu na nepušače (2,3). Svaki udah cigaretnog dima sadrži više od 2000 ksenobiotičnih komponenti i oko 10^{14} slobodnih radikala koji oštećuju plućne epitelne stanice (16).
- Deficijencija primarne plućne proteaze α1 antitripsina što dovodi do ranog razvoja emfizema. α1 antitripsin je glavni inhibitor proteolitičkog enzima neutrofilne

elastaze pa u njegovu manjku dolazi do narušavanja ravnoteže između proteinaza i antiproteinaza što konačno dovodi do povećanja proteolitičke aktivnosti, destrukciji tkiva, povećanju zračnog prostora i razvoju emfizema (3,16,33)

- Razvoj jakog oksidativnog stresa zbog neravnoteže između oksidansa i antioksidansa u plućima pacijenata s KOPB-om. Oksidativni stres inaktivira antiproteinaze što dodatno amplificira upalu u dišnim putevima kod pušača, ali također i inducira staničnu smrt strukturnih stanica pluća (uglavnom alveolarnih epitelnih i endotelnih stanica) (6,16). Narušavanje ravnoteže između stanične smrti i nadomjestaka strukturnih stanica u plućima doprinosi uništenju alveolanih septa, pogoršava kontinuiranu upalu i posljedično vodi u razvoj emfizema (6,16).

Egzacerbacije i komorbiditeti poput kardiovaskularnih bolesti, cerebrovaskularnih bolesti, metaboličkog sindroma, osteoporoze, depresije i karcinoma pluća doprinose ukupnoj težini bolesti. (2, 3, 4, 5).

Iako se danas mnogo zna o dijagnostici i terapiji KOPB-a, malo toga je poznato o imunološkim procesima koji dovode do razvoja i progresije bolesti. Poseban problem predstavlja činjenica da je veliki broj bolesnika s KOPB-om rezistentan na terapiju kortikosteroidima (34) zbog čega se intenzivno traga za rješenjima pojedinih imunoloških procesa kako bi se otkrile alternativne terapijske mogućnosti.

U patogenezi sudjeluju urođeni i stečeni imunološki odgovor kao komponente integriranog sustava u kojem stanice i molekule djeluju usklađeno i kooperativno.

Urođeni imunosni odgovor

Urođeni (nativni, prirodni) imunološki odgovor čini prvu liniju obrane organizma, a čine ju stanične i biokemijske reakcije na mikroorganizme i sastavnice oštećenih stanica koje osiguravaju učinkovitu ranu obranu od infekcija (3,4,6). Mehanizmi urođene imunosti specifični su za strukture, nemaju sposobnost memorije i nisu povezani sa stvaranjem dugodjelujućeg protektivnog imuniteta te pri svakom štetnom agensu reagiraju na isti način (4).

Glavne sastavnice urođenog imunološkog odgovora su fizičke i kemijske zapreke, stanice te plazmatske bjelančevine (tablica 1) (4). Urođena imunost predstavlja inicijalni, ali brz i nespecifičan odgovor na mikroorganizme, uklanja oštećene stanice i njene sastavnice, pokreće procese obnove tkiva, potiče adaptivni imunološki odgovor i moderira prirodu adaptivnog odgovora kako bi ga se učinilo optimalno učinkovitim (3,4,5,6).

Kako bi se spriječio prodor patogena u donji respiratorni trakt, pluća i dišni putevi obogaćeni su sastavnicama urođenog imunološkog sustava: barijerom cilindričnog epitela koji sadrži trepetljike i vrćaste stanice koje izlučuju sluz, humoralnim faktorima kao što su antimikrobni peptidi, proteinima komplementa i surfaktantom te brojnim antigen prezentirajućim dendritičkim stanicama, NK stanicama, makrofagima, neutrofilima, mastocitima i monocitima (2,3,4,6).

Tablica 1. Glavne sastavnice urođenog imunološkog odgovora

Fizičke i kemijske zapreke	Koža
	Epitel sluznica
	Antimikrobne tvari
Stanice	Neutrofili
	Makrofagi
	Dendritičke stanice
	Prirodnoubilačke NK stanice
	Monociti
	Mastociti
Bjelančevine krvi	Sustav komplementa
	Drugi posrednici upale

Urođena imunost predstavlja izuzetno moćan i učinkovit sustav u obrani organizma, ali dolazi uz visoku cijenu uslijed pretjerane imunološke reakcije i dugotrajnog i kontinuiranog prekomjernog upalnog odgovora što rezultira bolestima kao što je KOPB.

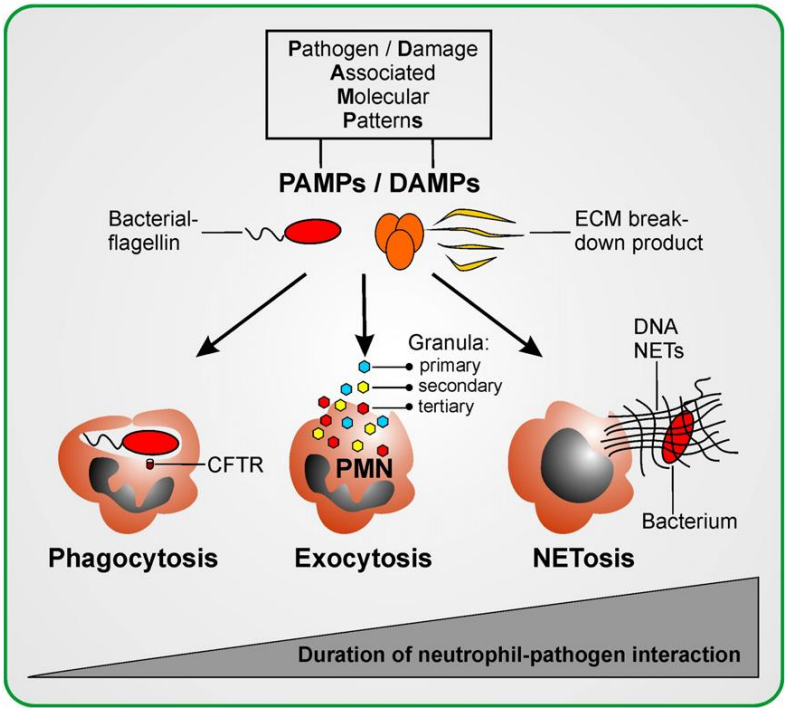
- Prepoznavanje sastavnica mikroorganizama i oštećenih vlastitih stanica

Prvi ključan korak u indukciji nespecifičnog imunološkog odgovora je prepoznavanje struktura koje su strane vlastitom organizmu ili su posljedica smrti vlastitih stanica, a nazivamo ih PAMP i DAMP molekule (slika 1) (4).

PAMP molekule su molekularni obrasci produkata patogenih mikroorganizama koji potiču urođenu imunološku reakciju, a obuhvaćaju nukleinske kiseline (ssRNA, dsRNA, CpG), proteine (pilin, flagelin), ugljikohidrate (LPS, lipoteikoična kiselina) i lipide (manan, glukani) (4)

Također, sustav prepoznaje i tvari podrijetlom iz stanica vlastitog organizma koje se stvaraju i/ili oslobađaju zbog oštećenja ili smrti endogenih stanica, a nazivaju se molekularnim obrascima povezanim s oštećenjem tkiva (DAMP) i te se molekule u pravilu ne oslobađaju iz stanica koje umiru apoptozom (4).

Slika 1. PAMP i DAMP molekule



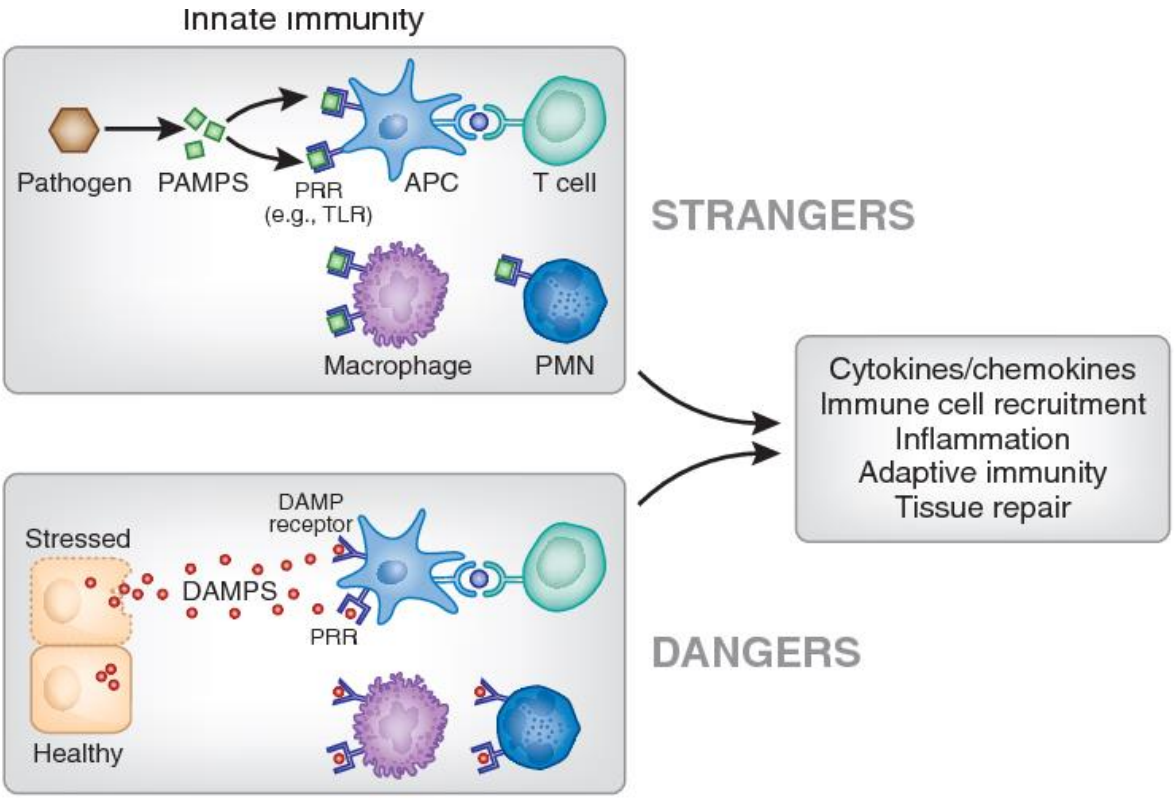
(Hartl D, Gaggar A, Doering GN, i sr. Innate immunity in cystic fibrosis lung disease. J of cystic fibrosis:2012;10.1016/j.jcf.2012.07.003)

- Stanični receptori za prepoznavanje molekularnih obrazaca

Sustav urođene imunosti koristi nekoliko vrsta supstrat prepoznavajućih receptora koji detektiraju PAMP i DAMP i time aktiviraju unutarstanične signalne putove koji dovode do stvaranja staničnog odgovora (4,16). Receptori se izražavaju na površini stanica koje prve dolaze u kontakt s mikrobima ili štetnom noksom (fagociti, dendritičke stanice, epitelne stanice i dr.), ali se i u krvi i izvanstaničnim tekućinama mogu naći proteini koji prepoznaju PAMP te potiču i pospješuju fagocitozu.

Transmembranski receptori slični Tollu (TLR) izražavaju se na površini mnogih stanica urođene imunosti i endosoma, a služe za prepoznavanje molekularnih obrazaca produkata mikroorganizama i molekula koje se oslobađaju iz promijenjenih i umirućih stanica (4,6,16). Domene tih receptora nalaze se na citoplazmatskim krajevima receptora za citokine IL-1 i IL-18 što navodi da imaju slične signalne puteve (16,35). Na TLR receptore se također vežu HSP bjelančevine toplinskog šoka koje potiču odgovor na različite vrste staničnog stresa, kao i bjelančevine HMGB1 koja je uključena u transkripciju i popravak DNA. Bjelančevine HSP i HMGB1 su unutarstanične i kao takve ih imunološki sustav ne prepoznaje kao strane, ali uslijed oštećenja stanice zbog npr. Izlaganju štetnim tvarima iz cigaretnog dima, mogu postati izvanstanične, vezati se za TLR receptor (TLR2 i TLR4) i pokrenuti urođenu imunološku reakciju (4,35).

Slika 2. PAMP molekule aktiviraju transmembranske TLR i citoplazmatske NLR receptore



(Rosin DL, Okusa MD. Dangers within: DAMP responses to damage and cell death in kidney disease.J of the Am Soci of Nephr.;10.1681/ASN.2010040430)

Postoje tri skupine citoplazmatskih receptora za prepoznavanje obrazaca koji se aktiviraju na zarazu ili oštećenje stanica unutar citoplazme, a to su receptori slični NOD-u (NLR), receptori slični RIG-u (RLR) i citosolni senzori DNA (4).

- NLR receptori reagiraju na citoplazmatske PAMP i DAMP stvarajući signalne komplekse (inflamasome) koji proizvode aktivne oblike upalnih citokina IL-1 i IL-18 čime se potiče upala koja ima zaštitnu ulogu protiv mikroorganizama. Nekontrolirana

aktivacija inflamasoma dovodi do pretjeranog stvaranja IL-1 što rezultira ponavljajućim lokaliziranim upalama (4).

- Receptori slični RIG-u (RLR) su citoplazmatski senzori virusnih RNA koji reagiraju na virusne nukleinske kiseline tako što potiču stvaranje antivirusnih interferona tipa I (4).
- Citsolni senzori za DNA aktiviraju signalne puteve koji potiču antimikrobne odgovore, uključujući stvaranje interferona I i autofagiju (4).

- <u>Patofiziološki mehanizam i imunološka reakcija u dišnom traktu</u>

U dišnim putevima i plućnom parenhimu inhalacija partikli cigaretnog dima i/ili drugih štetnih iritansa u udahnutom zraku aktiviraju strukturne i upalne stanice u respiratornom traktu, aktiviraju stanice urođene imunosti te nekoliko različitih supstrat-prepoznavajućih receptora direktno preko individualnih komponenti udahnutog zraka, ili indirektno putem stanične ozljede uslijed djelovanja toksičnih agensa cigaretnog dima, oksidativnog stresa, infekcije ili tkivne hipoksije zbog kojih se oslobađaju DAMP molekule (6,16,34)

Nije u potpunosti razjašnjeno kako točno cigaretni dim pokreće nespecifični imunološki odgovor, ali neki autori daju potencijalno objašnjenje putem tzv. „opasne hipoteze“(36) smatrajući da sama prisutnost nekog mikroba nije dovoljna za inicijaciju imunološkog odgovora, već da se on događa kao odgovor na stanični stres i oštećenje tkiva, tzv. „opasnih signala“ koji nastaju kao posljedica infekcije. TLR receptori su senzori na stanicama urođenog imunološkog odgovora koji prepoznaju molekularne obrasce na patogenima, a neki od njih mogu započeti imunološki odgovor protiv oštećenog tkiva (4,6,36).

Oštećenjem međustaničnog tkiva oslobađaju se produkti koji mogu imati ulogu liganda za TLR4 i TLR2 koji kada se aktiviraju pokreću put NF-κB i time induciraju epitelne stanice na proizvodnju medijatora upale (6,37). Aktivirane epitelne stanice koje oslobađaju potentne proinflamatorne medijatore i kemoatraktante kao što su citokin TNFα i kemokin c-x-c motif (liganda CXCL8), a izlučuju ih u bronhe, iz krvi navlače neutrofile i monocite (16). Zajedno s alveolarnim makrofagima, ove imunološke stanice secerniraju citokine, kemokine, proteolitičke enzime i reaktivne kisikove spojeve te tvore upalno okruženje koje amplificira imunološki odgovor i vodi u destrukciju alveolarnog tkiva (4,16).

Alveolarni makrofagi potiču regrutaciju neutrofila i upalnih monocita u plućni parenhim pa se opaža povećan broj tih stanica kod pušača i bolesnika s KOPB-om.

Aktivirani neutrofili i makrofagi uzrokuju oštećenje dišnih puteva i plućnog parenhima kroz oslobađanje kisikovih radikala i proteolitičkih enzima kao što su neutrofilna elastaza i matriks metaloproteinaza (MMP), uključujući MMP8, MMP9 i MMP12 (prije zvana makrofagna elastaza) (38). Enzim koji izlučuju neutrofili, neutrofilna elastaza, je potentni stimulator proizvodnje i sekrecije mucina koja nastaje zbog proteolitičke razgradnje TGF-α. Prekomjerna produkcija mucina i oštećeni mukocilijarni klirens doprinose opstrukciji zraka u bolesnika s KOPB-om (16).

Prirodno ubilačke NK stanice temeljem njihove morfologije, ekspresije limfocitnih markera i zajedničkog podrijetla s limfocitnom progenitornom stanicom klasificirane su kao limfociti, ali se smatraju komponentama urođenog imunološkog odgovora jer im nedostaju antigen-specifični površinski receptori (4). NK stanice i CD8+ T stanice djeluju kao citolitički efektorski limfociti te mogu direktno uzrokovati smrt stanice, ne samo onih stanica zaraženih virusom i tumorskih stanica nego i strukturnih stanica

pluća, koje umiru apoptozom ili nekrozom. Te stanice otpuštaju proteolitičke enzime perforine i granzim B koji imaju sposobnost razaranja ekstracelularnog matriksa i doprinose citotoksičnosti stanica plućnog tkiva (4,21,22).

U sputumu bolesnika s KOPB-om u odnosu na one bez KOPB-a nađena je povećana količina prirodno ubilačkih NK stanica CD3- i CD56+ kao i povećana citotoksična aktivnost NK stanica koje na svojoj površini izražavaju perforine i granzim B (21,22). Dodatno, NK stanice komuniciraju s dendritičkim stanicama te potiču njihovu maturaciju pomoću produkcije interferona γ i TNFα (4).

Tablica 2. Citokini urođene imunosti (4)

Citokin	**Stanice koje stvaraju citokin**	**Ciljne stanice i biološki učinci**
TNF	Makrofagi, T stanice	Endotelne stanice: aktivacija (upala, zgrušavanje krvi) Neutrofili: aktivacija Hipotalamus:vrućica Mišić, masno tkivo: katabolizam Mnoge vrste stanice:apoptoza
Interferoni tipa I (IFN-α, IFN-β)	IFN-α: makrofagi, dendritičke stanice IFN-β: fibriblasti	Sve stannice: antivirusno stanje, povećan izražaj molekula MCH-I Stanice NK: aktivacija
IL-1	Makrofagi, endotelne stanice, neke epitelne stanice	Endotelne stanice: aktivacija (upala, zgrušavanje krvi)

		Hipotalamus:vrućica Jetra: sinteza bjelančevina akutne faze Stanice T: diferencijacija stanica T_H 17
IL-6	Makrofagi, endotelne stanice, stanice T	Jetra: sinteza bjelančevina akutne faze Stanice B: proliferacija stanica koje proizvode protutijela Stanice T: diferencijacija stanica T_H 17
IL-12	makrofagi, dendritičke stanice	Stanice T: diferencijacija stanica T_H 1 NK stanice i stanice T: sinteza IFN-γ, povećanje citotoksične aktivnosti
IL-18	makrofagi	NK stanice i stanice T: sinteza IFN-γ

Iako su mastociti tradicionalno patofiziološki povezivani s mehanizmima razvoja alergijske astme, neki dokazi govore u prilog sudjelovanja mastocita i u patogenezi KOPB-a. Studije o histologiji plućnog tkiva pokazale su da s progresijom KOPB-a u kasnim stadijima bolesti mastociti prolaze kroz brojne promjene u vidu gustoće, morfologije i distribucije, uključujući i povećanje broja luminalnih mastocita (16).

Neki autori smatraju kako se KOPB-a kod većine pušača ipak neće razviti ukoliko urođeni imunološki odgovor bude minimalan te da neće doći do strukturnih promjena dišnih puteva i pluća i razvoja emfizema (6).

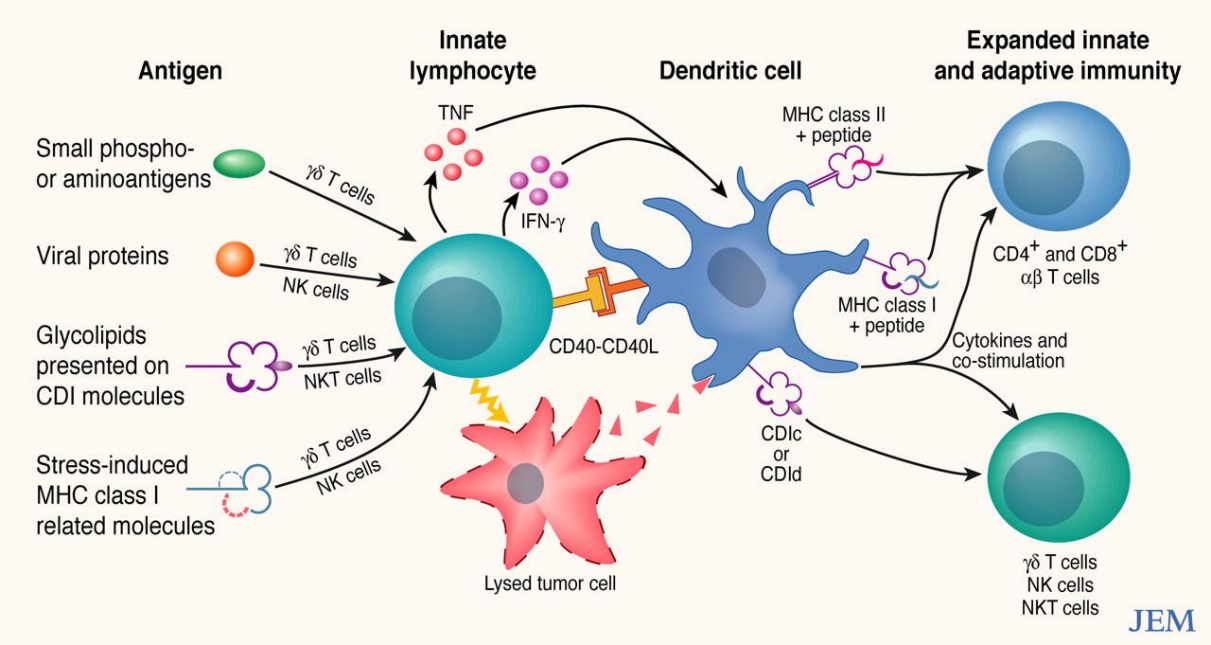
Dendritičke stanice kao poveznica urođenog i stečenog imunosnog odgovora

Dendritičke stanice su specijalizirane antigen - prezentirajuće stanice čija je funkcija hvatanje antigena mikroorganizama, njihov prijenos do limfnih organa i predočivanje antigena naivnim limfocitima T kako bi se pokrenula imunološka reakcija (4). Dakle, dendritičke stanice povezuju urođeni i stečeni imunosni odgovor. Nezrele dendritičke stanice iniciraju imunološku reakciju kao odgovor na ulazak patogena, iritansa ili tkivnu ozljedu (7). Ove stanice sazrijevaju kada TLR receptori izloženi na njihovoj površini prepoznaju i izlože vezu s antigenom nakon čega gube svojstvo adhezije za epitel i ostala tkiva (4).

Zrele dendritičke stanice na svojoj površini izražavaju velike količine MHC II proteinskih molekula i ko-stimulatorne molekule CD80 i CD86 koje ih usmjeravaju lokalnim limfnim čvorovima i potiču aktivaciju limfocita T (4, 6). Kod pušača s KOPB-om, nalazi se povećan broj dendritičkih stanica u perifernim dišnim putevima što je najvjerojatnije povezano s visokom ekspresijom kemoatraktanta CCL20 (6, 8).

Velika je vjerojatnost da antigeni materijal u plućima pušača dolazi od oštećenih, nekrotičnih i apoptotičnih stanica uslijed izlaganja cigaretnom dimu (10). Taj stanični materijal prepoznaju dendritičke stanice koje na svojoj površini izražavaju molekule MHC I razreda te ga prezentiraju CD8+ T stanicama. Pluća bolesnika s KOPB-om obiluju takvim T stanicama (6, 11)

Slika 3. Aktivacija dendritičkih stanica (9)

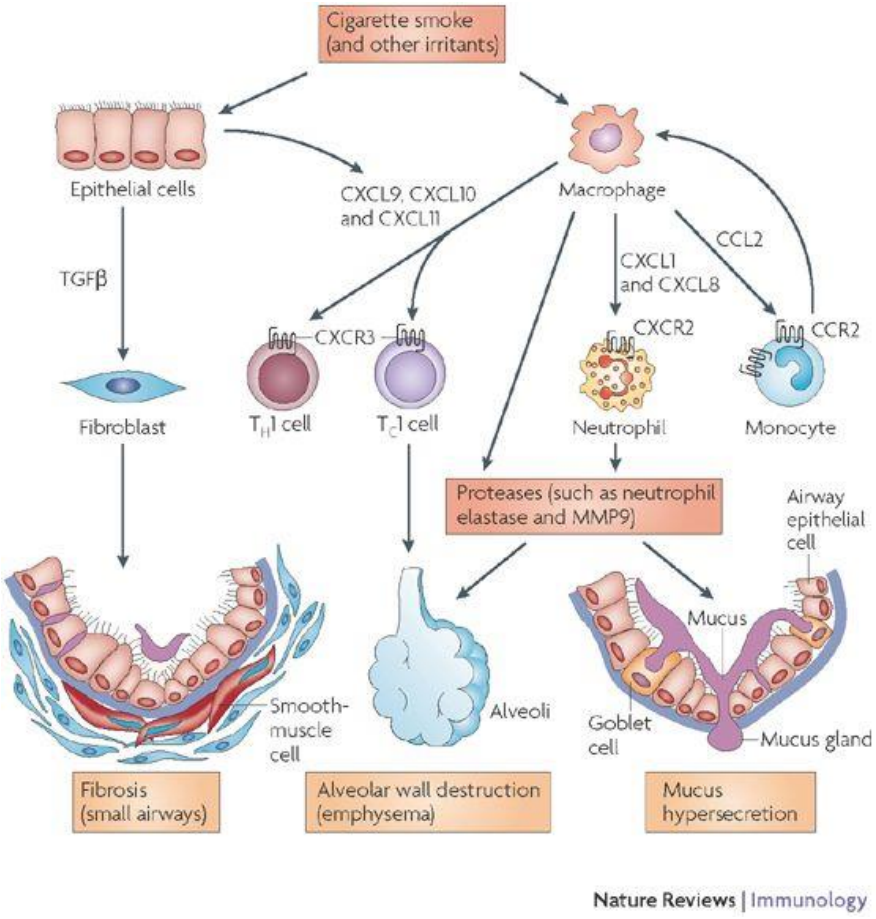


Nezreli limfociti, uključujući γδ T, NKT i NK stanice prepoznaju patogene i vlastite antigene na inficiranim, tumorskim i oštećenim stanicama (lijevo). Njihova aktivacija dovodi do sazrijevanja dendritičkih stanica vjerojatno pod uvjetima gdje dendritičke stanice također predstavljaju ligande - antigene koje prepoznaju urođeni limfociti. Dendritičke stanice tako proširuju urođeni odgovor (dolje desno) i također razvijaju stečeni imunitet na obrađene antigene (desno gore), uključujući i one dobivene iz stanica koje su lizirane urođenim limfocitima. Citokini i molekule ovisne o staničnom kontaktu posreduju aktivaciju dendritičkih stanica pomoću različitih tipova urođenih limfocita, dok dendritičke stanice proizvode citokine koji proširuju i razlikuju urođene i stečene limfocite.

Naivne, neaktivirane T stanice ne mogu ući u plućni parenhim iz krvnih žila, ali jednom kada se aktiviraju pomoću antigen prezentirajuće dendritičke stanice, mogu biti uvučene u pluća pomoću njihovog tkivno specifičnog kemokinskog receptora (6, 11, 12). U plućima pušača s KOPB-om, CD8+ i CD4+ T stanice izražavaju tkivno specifične kemokinske receptore CXCR3, CCR5 i CXCR6 (6, 13); slika 4. Kod bolesnika s KOPB-om, ligandi za te receptore su IP-10 (interferonom induciran protein 10 - ligand za CXCR3-CXCL10) (6, 13) i MIG (monokin induciran interferonom γ - ligand za CXCL9), a pojačano ih stvaraju ih strukturne epitelne stanice dišnih puteva i endotel krvnih žila. Tu pojavu nalazimo kod bolesnika s

KOPB-om , ali ne i kod pušača i nepušača bez KOPB-a te ona korelira s težinom bolesti (6, 13, 14).

Slika 4. Upalne i imunološke stanice u KOPB-u



(Barnes PJ. Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. Nature Reviews Immunology, volume 8, 2008; ISSN 1474-1741)

Dendritičke stanice također izlučuju IL-12 koji potiče integraciju signala u mikrookolišu te promovira transdukciju signala i transkripciju STAT4 gena neophodnog za diferencijaciju CD4+ T stanica u Th1 izvršne stanice koje tako aktivirane proizvode IFN-γ (4, 6). Kod pušača s KOPB-om, u plućima se nalazi

povećan broj CD4+T stanica koje izražavaju STAT4, a uočena je i korelacija između ekspresije STAT4 i IFN- γ sa stupnjem suženja dišnog prostora kod bolesnika s KOPB-om (6, 15).

Kao posljedica akutne ekspozicije cigaretnom dimu, epitel donjeg respiratornog trakta u bronhoalveolarni lavat neposredno i selektivno regrutira populaciju dendritičkih stanica nalik Langerhansovim stanicama. Nadalje, u bronhoalveolarnom lavatu pušača s KOPB-om povećano je izlučivanje Langerina i molekula CD1a (ligandi za Langerhans-slične dendritičke stanice) kao i kostimulatornih molekula CD80 i CD86 na dendritičkim stanicama, u odnosu na nepušače (16, 17, 18). Imunohistokemijskim metodama u plućnom parenhimu pokazala se selektivna akumulacija Langerin+ dendritičkih stanica u malim dišnim putevima kod bolesnika s KOPB-om, koja se povećava s kliničkom progresijom bolesti i težinom bolesti, a povezuje se s povećanjem ekspresije kemokina (c-c motif) CCL 20 (8,16).

Dendritičke stanice infiltriraju bronhe i aktiviraju CD4+ T stanice koje se diferenciraju u T_H1 i T_H17 u borbi protiv mikroorganizma i štetnih noksi (16).

Dodatno, citotoksične CD8+ T stanice akumuliraju se u plućnom tkivu i uzrokuju oštećenje alveolarnog epitela i staničnu smrt (16,19).

Stečeni imunosni odgovor

Stečeni (adaptivni) imunosni odgovor aktivira jedan ili više zaštitnih mehanizama, kao što su stvaranje protutijela, fagocitoza i razaranje citotoksičnim limfocitima T, kako bi povećao obrambenu sposobnost organizma na strane antigene. Razvija se kasnije u odnosu na urođenu imunost i zahtjeva aktivaciju limfocita (4).

- Uloga CD8+ T stanica

U velikim i malim dišnim putevima kao i u alveolama, CD8+ T citotoksične stanice su predominantno zastupljene kod bolesnika s KOPB-om. Broj CD8+ T stanica u plućima značajno raste i korelira sa stupnjem opstrukcije i emfizema što sugerira da ove stanice uzrokuju tkivnu ozljedu u pacijenata s KOPB-om (20). Molekule koje izražavaju MHC I razred mogu postati metom za CD8+ citotoksične stanice koje otpuštajući proteolitičke enzime perforine, granulizine, granzima i TNFα uzrokuju apoptozu i/ili nekrozu strukturnih stanica (4,6,22). Smrt endotelnih i epitelnih stanica nije kompenzirana dostatnom staničnom proliferacijom što najvjerojatnije doprinosi destrukciji pluća u KOPB-u (16.)

Kod pušača s KOPB-om u perifernim dišnim putevima, na limfocitima T tipa I povećana je ekspresija kemokinskog receptora CXCR3, kao i njegovog liganda, proteina 10 induciranog interferonom (CXCL10), što sugerira da interakcija između kemokina CXCL10, kemokina c-x-c motif receptora CXCR3 u makrofagima uz CXCL9 iz T stanica može biti umiješana u regrutaciju CD8+ T stanica (16,21). Neki autori navode ulogu tih kemokina u regulaciji stvaranja enzima matriks metaloproteinaze-12 (MMP12) čime se facilitira destrukcija plućnog tkiva (23).

- Uloga CD4+ T stanica

U dišnim putevima i plućnom parenhimu pušača s KOPB-om povišen je broj aktiviranih CD4+ T stanica., ali ne i u krvotoku što upućuje na zaključak da je akumulacija u plućima potaknuta antigenom razasutim po plućnom tkivu (6,26). CD4+ T stanice u plućima pušača s KOPB-om izražavaju transkripcijski faktor STAT4 i interferon γ što sugerira antigenu stimulaciju, a količina tih stanica korelira s opstrukcijom zraka, što potkrjepljuje teoriju da ove stanice, zajedno s CD8+ T stanicama, igraju važnu ulogu u patogenezi KOPB-a (4,23,24). Barem 2 vrste različitih efektorskih CD4+ T_H stanica se akumulira u plućima pacijenata sa stabilnim KOPB-om: T_H1 i T_H17 stanice (23,24).

T_H1 stanice koje eksprimiraju kemokinske receptore CCR5 i CXCR3 produciraju IFN-γ i potiču transendotelnu migraciju upalnih stanica na mjesto ozljede i akumulaciju makrofaga (4, 6,16). Plućni limfociti kod pacijenata s KOPB-om imaju veći postotak CD4+ T stanica i secerniraju više IFN- γ u odnosu na pušače bez KOPB-a (23). Interleukin 18 koji promovira T_H1 stanični razvoj, snažno je izražen u alveolarnim makrofagima, CD8+ T stanicama te bronhalnom i alveolarnom epitelu u plućima bolesnika s KOPB-om (4,25).

T_H17 T stanice proizvode interleukin 17A i interleukin 17F i time reguliraju tkivnu upalu i imunološki odgovor na ekstracelularne patogene. T_H17 citokini potiču epitelne stanice na proizvodnju antimikrobnih peptida (kao što su β defenzini), kemokina, i granulocitnih faktora rasta G-CSF i GM-CSF kako bi potaknuli neutrofilnu akumulaciju na mjestu tkivne ozljede (4,16). Pacijenti s KOPB-om imaju povećan broj interleukina 23+ imunoreaktivnih stanica u bronhalnom epitelu i interleukina 17A+ stanica u bronhalnoj submukozi (24).

- Uloga Treg stanica

Regulatorne T stanice (Treg) su podskupina CD4+ T stanica s imunoregulatornom funkcijom, a sudjeluju u inhibiciji autoimunosti i supresiji upale (16,4). Dvije obilne podskupine su prirodne Treg stanice i adaptivne ili inducibilne Treg stanice. Prirodne Treg stanice odlaze iz timusa kao efektorske stanice i ključne su za održavanje tolerancije vlastitog tkiva, dok inucibilne Treg stanice sazrijevaju na periferiji i aktivira ih egzogeni antigen. (16) Treg stanice djeluju supresivno na druge T stanice ili na antigen-prezentirajuće dendritičke stanice preko kontakt-ovisnog mehanizma ili preko produkcije protuupalnih citokina kao što su interleukin 10 i transformirajući faktor rasta β (TGF β).

Treg stanice eksprimiraju transkripcijski faktor FOXP3 i površinski marker CD25 α lanca receptora interleukina 2 (16,27). Pušači s KOPB-om i emfizemom imali su značajno manje Treg stanica u plućima (manje mRNA) za FOXP3, i manje sekrecije interleukina 10 u plućima u odnosu na kontrole. Broj CD4+ CD25-svijetlih stanica je značajno povišen u bronhoalveolarnom lavatu kod pušača s normalnom plućnom funkcijom u usporedbi s osobama koje nikad nisu pušile i s pacijentima s umjerenim KOPB-om (28,29). FOXP3 i CD4+ T stanice su povišene u limfoidnim folikulima kod pacijenata s umjerenim KOPB-om, što sugerira da bi Treg stanice mogle regulirati upalni odgovor kako bi se spriječila autoimunost (6).

- Uloga B-stanica

Biopsija centralnih bronha pokazala je povećan broj B stanice u perifernim dišnim putevima i plućnom parenhimu kod bolesnika s KOPB-om (30). Organizirane su u limfatične folikule koji se nalaze oko malih dišnih puteva i u plućnom parenhimu kod pacijenata s KOPB-om, pogotovo kod bolesnika s teškim i vrlo teškim stadijem

bolesti (16,30). Kao i kod drugih tkiva zahvaćenih upalom, limfoidni folikuli kod pacijanata s KOPB-om rezultat su limfoidne neogeneze i pripadaju limfnom tkivu u bronhima (iBALT), a predstavljaju ektopično anatomski i funkcionalno dobro organizirano limfno tkivo koje se formira kao odgovor na infekciju ili upalu (31). iBALT prima antigene u dišnom putu, inicira lokani imunosni odgovor i održava memorijske stanice u plućima.

Limfatični folikuli koji se stvaraju kao odgovor na stalni antigeni podražaj, sadržavaju specifično aranžirane memorijske i nativne B stanice, T stanice, dendritičke stanice i folikularne dendritičke stanice koje omogućuju T i B stanicama inicijalno prepoznavanje te njihovu klonalnu ekspanziju (4). Limfatični folikuli organizirani su u B i T stanična područja, a regulirana su kemokinima koji diktiraju mobilnost limfocita i dendritičkih stanica (4). Kemokini CCL19 i CCL21 privlače naive limfocite T pomoću ekspresije CCR7 i maturacije dendritičkih stanica u T stanična područjima, dok kemokin CXCL13 privlači B stanice ekspresijom CXC5 (4,31). Za indukciju kemokina u iBALT-u potreban je interleukin 17, a jednom formirano limfno tkivo u obliku iBALT-a ostaje trajno te participira u lokalnim imunosnim odgovorima (31).

U limfatičnim folikulima događa se antigena retencija, zamjena razreda imunoglobulina i maturacija stanica (31). Smatra se da antigeni cigaretnog dima, mikrobni antigeni, tvari raspadnutog matriksa i autogeni mogu biti involvirani u antigen-specifičnu indukciju B stanica (32). Stoga, patogenetska uloga folikularnih B stanica je upitna: može biti blagotvorna u ulozi obrane od mikrobne kolonizacije i infekcije donjeg respiratornog trakta, ali s druge strane može biti i štetna ako je usmjerena na sastavnice plućnog tkiva što upućuje na autoimunu komponentu u patogenezi KOPB-a a pogotovo emfizema (6).

Uloga reaktivnih kisikovih spojeva u upali kod KOPB-a

Cigaretni dim sadrži preko 2000 različitih kemijskih spojeva i u svakom udahu generira više od 1000 kisikovih radikala koji ireverzibilno oštećuju plućni parenhim (39). Ovi reaktivni spojevi, zajedno s dušikovim radikalima, imaju mogućnost interakcije sa staničnim organelama kao mitohondrijima i endoplazmatskim retuikulumom što za posljedicu može imati značajne poremećaje stanične arhitekture i metabolizma (39). Kisikovi slobodni radikali oštećuju DNA, zaustavljaju rad stanica i mijenjaju njihovu funkciju (40). Stanice urođene imunosti (makrofazi, epitelne stanice, dendritičke stanice i dr.) koje prve pristižu na mjesto stanične ozljede, izlučuju citokine IL-1, IL-6 i IL-8 (4,41), a uzrokuju oštećenje tkiva stvaranjem još više oksidirajućih molekula, koji se oslobađaju uglavnom za uništavanje patogena koji nisu nužno prisutni i time narušavaju učinkovitost imunološkog odgovora (42). Slobodni kisikovi radikali smanjuju kapacitet fagocitoze neutrofila i alveolarnih makrofaga i uzrokuju neravnotežu u aktivnosti proteaze / anti-proteaze koja uzrokuje bakterijsku kolonizaciju i pretjerano oštećenje tkiva (43).

Dakle, u cjelini, ukupni neregulirani imunološki odgovor uz dodatno inducirano povećanje reaktivnih spojeva može dovesti do razvoja i napredovanje KOPB-a s posljedičnim remodeliranjem respiratornih struktura što je ireverzibilna posljedica bolesti. Traže se nove terapijske opcije kojima bi se bolje kontrolirao imunološki odgovor na štetne nokse i usporilo razvoj komplikacija, a time i utjecalo na bolju kvalitetu života.

LITERATURA

1. *World Health Organization*

   Source: Global Health Estimates 2016: Death by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000 – 2016. Geneva, World Health Organization; 2018. Dostupno na: http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death
2. *Placebo d.o.o. Split.* MSD priručnik dijagnostike i terapije pod pokroviteljstvom Hrvatskog liječničkog zbora (2014): Pulmologija: Kronična opstruktivna plućna bolest. (2014). Dostupno na: http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-prirucnik/pulmologija/kronicna-opstruktivna-plucna-bolest
3. *Ralston S.H., Penman I.D., Strachan M.W.J., Hobson R.P. (2018)*. Clinical Medicine: Respiratory medicine: Chronic obstructive pulmonary disease. Davidson's Principles and Practice of Medicine
4. Stanična i molekularna imunologija, Abbas AK. Lichtman AH, Pillai S. 8.izdanje, Medicinska naklada 2018.
5. *Bhat T.A., Panzica L., Kalathil S.G., Thanavala Y*. Immune Dysfunction in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease.*Transatlantic Airway Conference;2015..* Dostupno na: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26595735
6. *Cosio MG, Saetta M., Augusti A*. Immunological Aspects of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *N Engl J Med* 2009:360-2445-54.
7. *Parker LC, Prince LR, Sabroe I*. Translational mini-review series on Toll-like receptors:networks regulated by Toll-like receptors mediate innate and adaptive immunity. *Clin Exp Immunol* 2007;147:199-207

8. *Demedts IK, Bracke KR, Van Pottelberge G, et al*. Accumulation of dendritic cells and increased CCL20 levels in the airways of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175:998-1005.
9. *Münz C,, Steinman Ralph M, Fujii Shin-ichiro.* Dendritic cell maturation by innate lymphocytes. *Journal of experimental medicine* 2005; 10.1084/jem.20050810.
10. *Baron C, Raposo G, Scholl SM, et al.* Modulation of MHC class II transport and lysosome distribution by macrophage-colony stimulating factor in human dendritic cells derived from monocytes. *J Cell Sci* 2001;114:999-1010.
11. *Cosio MG.* T lymphocytes. In: Barnes PJ, ed. Chronic obstructive pulmonary disease:cellular and molecular machanisms. Lung biology in health and disease series. *Vol. 198. Boca Raton, FL: Taylor & Francis*, 2005:205-52.
12. *Butcher EC, Picker LJ*. Lymphocyte homing and jomeostasis. *Science* 1996;272:60-6.
13. *Freeman CM, Curtis JL, Chensue SW*. CC chemokine receptor 5 and CXC chemokine receptor 6 expression by lung CD8+ cells correlates with chronic obstructive pulmonary disease severity. *Am J Pathol* 2007;171:767-76.
14. *Grumelli S, Corry DB, Song LZ, i sr*. An immune basis for lung parenchymal destruction in chronic obstructive pulmonary disease and emphysema. *PLoS Med* 2004;1(1):e8.
15. *Di Stefano A, Caramori G, Capelli A, et al*. STAT4 activation in smokers and patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 2004;24:78-85.

16. *Brusselle GG, Joos GF, Bracke KR.* New insights into the immunology of chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet* 2011;378:1015-26.
17. *Lommatzsch M, Bratke K, Knappe T, et al.* Acute effects of tobacoo smoke on human airway dendritic cells in vivo. *Eur respir J* 2010;35:1130-36.
18. *Freeman CM, Martinez FJ, Han MK, et al*. Lung dendritic cell expression of maturation molecules increases with worsening chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Reapir Crit Care Med* 2009;180:1179-88.
19. *Heath WR, Carbone FR.* Dendritic cell subsets in primary and secondary T cell responses at body surfaces. *Nat Immunol* 2009;10:1237-44.
20. *Saetta M, Di Stefano A, Turato G, et al*. CD8+ T lymphocytes in peripheral airways of smokers with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157:822-86.
21. *Saetta M, Mariani M, Panina-Bordignon P, et al*. Increased expression of the chemokine receptor CXCR3 and its ligand CXCL10 in peripheral airways of smokers with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165:1404-09.
22. *Urbanowicz RA, Lamb JR, Todd I, Corne JM, Fairclough LC*. Enhanced effector function of cytotoxic cells in the induced sputum of COPD patients. *Respir Res* 2010; 11:76.
23. *Grumelli S, Corry DB, Song LZ, et al*. An immune basis for lung parenchymal destruction in chronic obstructive pulmonary disease and amphysema. *PLoS Med* 2004;1:e8.
24. *Di Stefano A, Caramori G, Gnemmi I, et al*. T helper type 17-related cytokine expression is increased in bronchial mucosa of stable chronic obstructive pulmonary disease patients. *Clin Exp Immunol* 2009;157:316-24.

25. *Imaoka H, Hoshino T, Takei S, et al*. Interleukin-18 production and pulmonary function in COPD. *Eur Respir J* 2008;31:287-97.

26. *Turato G, Zuin R, Miniati M, et al*. Airway inflammation in severe obstructive pulmonary disease: relationship with lung function and radiologic emphysema. *Am J Resp Crit Care Med* 2002;166:105-10.

27. *Tang Q, Bluestone JA*. The Foxp3 regulatory T cell: a jack of all trades, master of regulation. *Nat immunol* 2008;9:239-44.

28. *Barcelo B, Pons J, Ferrer JM, Sauleda J, Fauster A, Augusti AG*. Phenotypic characterisation of T-lymphocytes in COPD: abnormal CD4+ CD25+ regulatory T-lymphocyte response to tobacco smoking. *Eur Respir J* 2008; 31:555-62.

29. *Smyth LJ, Starkey C, Vestbo J, Singh D*. CD4-regulatory cells in COPD patients*. Chest* 2007; 132:156-63.

30. *Hogg JC, Chu F, Utokarpach S, et al.* The nature of small-airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease. *N Eng J Med* 2004; 350:2645-53.

31. *Randall TD.* Bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) structure and function. *Adv Immunol* 2010. 107:187-241.

32. *Brusselle GG, Demoor T, Bracke KR, Brandsma CA, Timens W.* Lymphoid follicles in (very) severe COPD: beneficial or harmful? *Eur Respir J* 2009; 34:21930.

33. *Parr DG, Lara B.* Clinical utility of alpha-1 proteinase inhibitor in the management of adult patients with severe alpha-1 antitrypsin deficiency: a review of the current literature*. Dove Press Journal* 2017; 11: 2149–2162.

34. *Barnes PJ*. Cellular and molecular mechanisms of asthma and COPD. *Clinical Science* 2017; 131:1541-1558.

35. *Frehani N, Letuve S, Kozhich a, et al.* Expression of high-mobility group box 1 and of receptor for advanced gycation end products in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2010;181:917-27.

36. *Matzinger P*. The danger model: a renewed sence of self. *Science* 2002; 296:301-5.

37. *Di Stefano A, Caramori G, Oares T, et al*. Increased expression of nuclear factor kappaB in vronchial byopsies from smokers and patients with COPD. *Eur Respir J* 2002; 20:556-63.

38. *Chung KF, Adock IM.* Multifaceted mechanisms in COPD: inflammation, immunity, and tissue repair and destruction. *Eur Respir J* 2008; 31:1334-56.

39. *Eapen MS, Myers S, Walters EH, Sohal SS*: Airway inflammation in chronic obstructive pulmonary diseases: a true paradox, Expert Review of Respiratory Medicine, 2017; 1747-6356. Dostupno na: http://www.tandfonline.com/loi/ierx20

40. *Ceylan E, Kocyigit A, Gencer M, Aksoy N, Selek S*. Increased DNA damage in patients with chronic obstructive pulmonary disease who had once smoked or been exposed to biomass. *Respiratory medicine*. 2006;100(7):1270-6.

41. *Aoshiba K, Tsuji T, Yamaguchi K, Itoh M, Nakamura H.* The danger signal plus DNA damage two-hit hypothesis for chronic inflammation in COPD. *European Respiratory Journal*. 2013;42(6):1689-95.

42. *Freund A, Orjalo AV, Desprez P-Y, Campisi J.* Inflammatory Networks during Cellular Senescence: Causes and Consequences. *Trends in molecular medicine*. 2010;16(5):238-46.

43. *Zuo L, He F, Sergakis GG, Koozehchian MS, Stimpfl JN, Rong Y, et al.* Interrelated role of cigarette smoking, oxidative stress, and immune response

in COPD and corresponding treatments. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2014;307(3):L205-L18.

ŽIVOTOPIS

Rođena sam 18.01.1986. u Splitu. Osnovnu školu i srednju Opću gimnaziju pohađala sam u Pločama, a srednju glazbenu školu u Mostaru. Godine 2004. upisala sam Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, na kojem od 3. god. studija pauziram nastavu iz osobnih razloga, a nastavljam 2015 g.

Član sam studentskog dijela Uredništva STUDMEFa od treće godine studija u čijem radu aktivno sudjelujem.

Dobitnica sam Posebne Dekanove nagrade u akademskoj godini 2015./2016.

Kao začetnica i voditeljica humanitarne akcije „Medicinari velikog srca“, u akademskoj godini 2017./2018. nagrađena sam Rektorovom nagradom za društveno koristan rad i akademskoj i široj zajednici.

Aktivno se služim engleskim i talijanskim jezikom.