ULOGA FIBROBLASTA U PATOGENEZI BRONHIJALNE ASTME

Danijela Vučević, Tatjana Radosavljević, Dušan Mladenović
Institut za patološku fiziologiju, Medicinski fakultet, Beograd

THE ROLE OF FIBROBLASTS IN PATHOGENESIS OF BRONCHIAL ASTHMA

Danijela Vucevic, Tatjana Radosavljevic, Dusan Mladenovic
Institute of Pathophysiology, School of Medicine, Belgrade, Serbia

SAŽETAK

Bronhijalna astma je hronična inflamacijska bolest disajnih puteva, koja se u poslednje vreme posmatra kao sindrom, tj. skup više oblika bolesti sa zajedničkim patofiziološkim ishodom. U svim oblicima astme fibroblasti i druge inflamacijske ćelije oslobađaju široki spektar preformiranih i novosintetisanih medijatora, koji razaraju integritet bronhijalne sluznice, zaustavljaju pokretanje cilija i dovode do oštećenja i jake sekrecije epitelnih ćelija. Pored toga, fibroblasti značajno doprinose nastanku subepitelne fibroze, kao i hipertrofiji glatkih mišića i formiranju novih krvnih sudova, što dovodi do remodelovanja zida disajnih puteva. Fibroblasti sintetišu i oslobađaju interleukin-8 i monocitne hemotoksijske proteine, koji pojačavaju i moduliraju postojeći zapaljenjski proces. Dokazano je da se u toku astmatičnog napada povećava proizvodnja oksidanasa. Metaboliti kiseonika čiji su izvor i fibroblasti, direktno oštećuju proteine ekstracelularnog matriksa i/ili slabe funkciju antiproteaza i/ili inaktiviraju enzime uključene u sintezu elastina i obnovu plućnog tkiva. Međutim, naučnici su još daleko od potpunog razumevanja patogeneze bronhijalne astme. Ono što se sa sigurnošću zna jeste da fibroblasti bitno doprinose njenom nastanku. Ostaje nada da će rezultati budućih istraživanja uloge fibroblasta u patogenezi bronhijalne astme poboljšati lečenje ove bolesti.

KLjučne reči: bolesti pluća opstruktivne, astma, fibroblasti, inflamacija, oksidativni stres.

UVOD

Otežano disanje usled trčanja, gimnastičkih vežbi ili neke druge fizičke aktivnosti naziva se astma (ασθμα), odnosno ortopnea (ορθοπνοια), čije pogoršanje pacijente ostavlja bez daha.

Aretej iz Kapadokije, starogrčki lekar i filozof

Bronhijalna astma je inflamacijska bolest koju karakteriše preosetljivost disajnih puteva sa povremenim periodima bronhospazma. Reč je o spazmu ili dužim kontrakcijama bronhijalne i bronhiolarne glatke muskulature. *Extrinsic* astma (atopijska, alergijska astma) je mnogo češća od *intrinsic* astme (nealergijske, neatopijske, inflamacijske astme). Bronhijalna astma je veoma složeno oboljenje na čije ispoljavanje utiču biohemijski,

ABSTRACT

Bronchial asthma is defined as a chronic inflammatory disease of the airways. Nowadays, it is believed that asthma is not a single entity, but a spectrum of diseases (syndrome rather than a disease), that have more or less common pathophysiologic outcomes. In all forms of asthma fibroblasts and other effector cells of the inflammatory response secrete a wide range of preformed and newly generated mediators, which damage the bronchial epithelium, contract smooth muscle and increase mucous secretion. Besides, fibroblasts are of great importance in development of subepithelial fibrosis, smooth muscle hypertrophy and new vessel formation, which lead to the remodelling of airway wall. They also stimulate and modulate inflammation by increasing synthesis of interleukin-8 and monocyte chemotactic proteins. There is ample evidence that oxidants generation is increased during an asthma exacerbation. Fibroblast-derived oxygen metabolites can directly damage a variety of extracellular membrane proteins and/or impair function of antiproteases and/or inactivate enzymes that are involved in elastin synthesis and pulmonary tissue regeneration. However, scientists are still far from the complete understanding of bronchial asthma pathogenesis. Since fibroblasts have been recognized as effector cells capable of inducing pathophysiological features of asthma, there is a hope that further investigations of their role in bronchial asthma pathogenesis will improve treatment of this disease.

Key words: lung diseases obstructive, asthma, fibroblasts, inflammation, oxidative stress.

autonomni, imunski, infektivni, endokrini i psihički faktori (1).

U poslednje vreme bronhijalna astma se posmatra kao sindrom, tj. skup više oblika bolesti koje imaju zajednički patofiziološki ishod (2). Smatra se da je inflamacija koja nastaje kao posledica hiperosetljivosti disajnih puteva osnovni patofiziološki supstrat u svim tipovima astme (1). Inflamacijske ćelije oslobađaju širok spektar preformiranih i novosintetisanih medijatora, koji razaraju integritet bronhijalne sluznice, zaustavljaju pokretanje cilija i dovode do oštećenja i jake sekrecije epitelnih ćelija (2-6). Bitne patomorfološke karakteristike bronhijalne astme su i subepitelna fibroza, hipertrofija glatkih mišića i formiranje novih krvnih sudova, što u krajnjem ishodu dovodi do remodelovanja zida disajnih puteva (4, 6, 7).

Međutim, uprkos velikoj pažnji koja se posvećuje proučavanju ove hronične, multifaktorske bolesti, pokretač primarnog patološkog događaja je i dalje nepoznat.

FIBROBLASTI I ZAPALJENJE MUKOZE DISAJNIH PUTEVA

Uloga fibroblasta u nastanku i razvoju bronhijalne astme pobuđuje posebnu pažnju (slika 1). Fibroblasti se nalaze u intersticijumu pluća, submukozi disajnih puteva i retikulumskoj zoni bazalne membrane epitelnog sloja mukoze respiracijskog trakta. Kao tipične stromalne ćelije, fibroblasti imaju značajnu ulogu u procesima reparacije tkiva posle njegovog mehaničkog ili hemijskog oštećenja (8). Novija istraživanja jasno pokazuju da fibroblasti svojom funkcijom prevazilaze ulogu ciljnih ćelija u ovim procesima i da, osim značaja koji imaju u reparaciji zapaljenjskog tkiva i razvoju fibroze disajnih puteva, značajno doprinose i razvoju same inflamacije (9–13).

Proizvodi aktiviranih epitelnih ćelija (endotelin-1 /ET-1/, interleukin-1 /IL-1/, faktor nekroze tumora- α /TNF- α –engl. *tumor necrosis factor- α* /, trombocitni faktor rasta /PDGF–engl. *platelet derived growth factor*/, transformišući faktor rasta- β /TGF- β –engl. *transforming growth factor- β* /, makrofaga (IL-1, TNF- α , PDGF, TGF- β) i mastocita (histamin, heparin, triptaza, interleukin-4 /IL-4/, TNF- α) dovode do stimulacije fibroblasta. Stimulaciji fibroblasta doprinosi i TGF- β , koji sintetišu i oslobađaju eozinofilni leukociti, kao i PDGF i TGF- β samih fibroblasta, pomoću kojih fibroblasti podstiču vlastitu aktivnost. Utvrđeno je da fibroblaste mogu stimulirati i druge inflamacijske ćelije. Brojni medijatori, enzimi i citokini, koje proizvode aktivirani fibroblasti, obezbeđuju lokalni mehanizam kojim se pojačava i modulira postojeći zapaljenjski proces (tabela 1 i 2) (14, 15).

Tabela 1. Medijatori, enzimi i citokini aktiviranih fibroblasta

Prostaglandin E₂ (PGE₂)
Leukotrijen B₄ (LTB₄)
Interleukin-1 (IL-1)
Interleukin-6 (IL-6)
Interleukin-8 (IL-8)
Monocitni hemotaksijski proteini (MCPi)
Kolagen (tip I, III, V)
Matriks metaloproteinaze (MMP/kolagenaze, gelatinaze, elastaza, stromelizin/)
Tkivni inhibitori metaloproteinaza (TIMP)
Produkti gena ADAM33

1. Reparacija oštećenog tkiva
 2. Subepitelna fibroza
 3. Hipertrofija glatkih mišića
 4. Stvaranje novih krvnih sudova
 5. Stimulacija i modulacija zapaljenja
 6. Stvaranje oksidanasa
- FIBROBLASTI**
- Bronhijalna astma**

Slika 1. Uloga fibroblasta u bronhijalnoj astmi

Posredstvom prostaglandina E₂ (PGE₂), fibroblasti smanjuju sopstvenu aktivnost i inhibicijom deluju na imunocite, naročito limfocite i monocite. Pored toga, zahvaljujući oslobađanju PGE₂ fibroblasti izazivaju relaksaciju glatke muskulature i vazodilataciju. Zajedno sa monocitima, fibroblasti predstavljaju značajan izvor interleukina-6 (IL-6) koji, u najvećem obimu u fazi akutne inflamacije podstiče proliferaciju i diferencijaciju B-limfocita, deluje pirogeno i aktivira sintezu adrenokortikotropnog hormona (ACTH– engl. *adrenocorticotrophic hormone*) hipofize. Istovremeno sa odvijanjem ovih procesa, u jetri IL-6 stimuliše stvaranje fibrinogena, enzima antiproteaza i C-reaktivnog proteina (8, 14, 15).

Aktivirane zapaljenjske ćelije u plućima podstiču oslobađanje interleukina-8 (IL-8) iz fibroblasta, monocita i alveolarnih makrofaga (AM), koji zatim, s obzirom na to da ima hemotaksijska svojstva, privlači polimorfonuklearne leukocite (PMN) (16, 17). Sličnu aktivnost takođe ispoljava i leukotrijen B₄ (LTB₄) (3, 17). Uz to, ovaj medijator indukuje agregaciju i adheziju PMN za endotel venula, formiranje reaktivnih kiseoničnih vrsta (RKV)

Tabela 2. Faktori rasta aktiviranih fibroblasta

Trombocitni faktor rasta (PDGF)
Transformišući faktor rasta- β (TGF- β)
Faktor koji stimuliše rast kolonija granulocita (G-CSF)
Faktor koji stimuliše rast kolonija monocita (M-CSF)
Faktor koji stimuliše rast kolonija granulocita i makrofaga (GM-CSF)
Faktori matičnih ćelija (C-kit ligandi) SCFi (KL)
Faktor rasta vezivnog tkiva (CTGF)
Faktor rasta epiderma (EGF)

(tabela 3) i oslobađanje enzima iz lizozoma (18). Osim IL-8, fibroblasti oslobađaju i monocitne hemotaksijske proteine (MCPi – engl. *monocyte chemotactic proteins*), koji deluju hemotaksijski na monocite i makrofage (14, 15). Produkcijom faktora koji stimulišu rast kolonija granulocita, monocita i makrofaga (G-CSF – engl. *granulocyte colony-stimulating factor*), M-CSF – engl. *monocyte colony-stimulating factor* i GM-CSF – engl. *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*), fibroblasti podstiču sazrevanje ovih ćelija (19). Utvrđeno je, takođe, da fibroblasti na svojoj površini ispoljavaju i oslobađaju u okolinu faktore matičnih ćelija (SCFi – engl. *stem cell factors*), tj. C-kit ligande (KL), kako se ovi faktori još označavaju, i na taj način značajno utiču na proliferaciju, diferencijaciju, migraciju i aktivaciju mastocita (14, 15).

Tabela 3. Oksidansi aktiviranih fibroblasta

Superoksidni anjon (O_2^-)
Vodonik-peroksid (H_2O_2)
Hidroksilni radikal ($OH^\cdot$)
Peroksinitrit ($ONOO^-$)
Etan (C_2H_6)
Izoprostan $F_{2\alpha}$ -III

Fibrogeneza disajnih puteva. – Fibroblasti imaju posebnu ulogu u produkciji ekstracelularnog matriksa. Oni sintetišu i sekretuju kolagen (tip I, III, V), koji se u vidu fibroznih vlakana deponuje u međućelijskom prostoru. U disajnim putevima takva vlakna su koncentrisana u retikulumskoj zoni bazalne membrane epitela i neposredno ispod nje (8). Retrakcijom fibroznih vlakana nastalih u toku inflamacije bronhija dolazi do deformacije bronhne sluznice i postepenog razvoja ireverzibilne bronhne opstrukcije, naročito u zoni malih disajnih puteva koji nemaju hrskavičnu strukturu (14, 15). Tome, svakako, doprinosi i uporedna hipertrofija glatkih mišića i sluznih žlezda, kao i pokrenuta angioneogeneza, pa nastaje ozbiljna komplikacija bronhijalne astme, tzv. remodelovanje disajnih puteva (20), koje se obično zapaža tek kad se opstrukcija ne popravlja dovoljno ni uz intenzivno lečenje bronhodilatatorima i kortikosteroidima (8). Na taj način fibroblasti kao najkompetentnije ćelije učestvuju u ukupnom formiranju vanćelijskog matriksa, kako u fiziološkim, tako i u zapaljenjskim procesima (14, 15).

Pokazano je da je fibrogeneza aktivan biosintetski proces u kome se nakuplja višak ekstracelularnog matriksa usled povećanog stvaranja i smanjene razgradnje komponenti ovog tkiva (21). Fibroblasti disajnih puteva obolelih od teškog oblika astme su sintetskog fenotipa sa izmenjenom produkcijskom sposobnošću. Oni imaju mali broj

miofibrila i izrazito razvijen biosintetsko-sekrecijski aparat. Smatra se da hipertrofija glatkih mišićnih ćelija u disajnim putevima astmatičara nastaje kao posledica sinergističke aktivnosti Cis leukotrijena, interleukina-13 (IL-13) i interferona- γ (INF γ). Pominje se takođe i moguća uloga pojačane ekspresije gena ADAM33, čiji su produkti veoma zastupljeni u fibroblastima i glatkim mišićnim ćelijama astmatičara (12).

Kod obolelih od astme TGF- β , PDGF i drugi mitogeni citokini, koji deluju autokrino na fibroblaste i stimulušu njihovu proliferaciju i produkciju kolagena, imaju posebnu ulogu u fibrogenezi. To potvrđuju povišene koncentracije ovih mitogena koje su registrovane u disajnim putevima astmatičara (12). Štaviše, danas je poznato da je PDGF najmoćniji mitogen ne samo za fibroblaste nego i za sve ostale ćelije mezenhinskog porekla (22). Ovaj dimerni protein, u čiji sastav ulaze četiri tipa subjedinica (PDGF-A, -B, -C i D lanci) (23), osim fibroblasta oslobađaju i druge ćelije u okruženju (trombociti, makrofagi, monociti, epitelne, endotelne i glatke mišićne ćelije) (8). Ustanovljeno je da PDGF povećava sintezu dezoksiribonukleinske kiseline (DNK) u hepatičnim zvezdastim ćelijama i miofibroblastima (24). Pored toga, PDGF dovodi do stimulacije ćelijske adhezije (22) i povećanja aktivnosti matriks metaloproteinaze (MMP)-2, MMP-9 i tkivnog inhibitora MMP-1 (25).

PDGF ostvaruje svoje efekte preko dva tipa receptora (PDGFR α i PDGFR β) posredstvom nekoliko signalnih puteva, od kojih su najznačajniji ERK (engl. *extracellular signal-regulated kinase*) signalni put i fosfoinozitol 3-kinazni put. Receptori za PDGF u funkcijskom pogledu pripadaju grupi tirozin kinaza. Posle vezivanja PDGF za receptor, dolazi do dimerizacije molekula PDGF i autofosforilacije tirozinskih rezidua u intracelularnom delu receptora. Fosforilisane tirozinske rezidue predstavljaju vezno mesto sa velikim afinitetom za različite proteine koji učestvuju u prenosu signala sa membrane u unutrašnjost ćelije. Prvi protein u nizu koji prima signal od receptora označen je kao Grb2. Kompleks PDGF receptora i Grb2 preko pomoćnog proteina aktivira Ras protein. Ras protein, zatim, pokreće kaskadnu aktivaciju signalnih citoplazmatskih proteina, kao što su Raf-1, MEK, ERK-1 i ERK-2. ERK-2 ulazi u jedro i fosforiliše nekoliko transkripcijskih faktora, među kojima su Elk-1 i SAP. Ovi faktori zatim podstiču transkripciju gena koji počinju deobu ćelije (22).

Poznato je da osim ERK signalnog puta, i fosfoinozitol 3-kinazni put ima značajnu ulogu u posredovanju PDGF signala u ćelijama mezenhinskog porekla. Aktivirani PDGF receptor dovodi do fosforilacije fosfoinozitol 3-kinaze, koja potom pokreće kaskadnu aktivaciju drugih kinaza u ćeliji (protein kinaze C, ribozomske S6 kinaze, protein kinaze B i dr.) (22).

Pokazano je da u odsustvu ekstracelularnog kalcijuma izostaje mitogeni odgovor ciljnih ćelija ekstracelularnog matriksa na PDGF (26). Na osnovu toga zaključeno je da je za dejstvo PDGF neophodno povećanje koncentracije intracelularnog kalcijuma, koji se najverovatnije ostvaruje ili povećanim oslobađanjem kalcijuma iz intracelularnih depoa pomoću inozitol trifosfata, ili povećanim influsom kalcijuma iz ekstracelularnog prostora. Izgleda da je ekstracelularni prostor umnogome važniji izvor kalcijuma (22).

Novija istraživanja ukazuju na veliki značaj RKV u posredovanju mitogenog dejstva PDGF. Adachi i saradnici su pokazali na kulturi humanih zvezdastih ćelija jetre i na *in vivo* modelu na miševima da je redukovani oblik nikotinamid-adenin-dinukleotid-fosfat (NADPH) oksidaze neophodan za ostvarivanje dejstva PDGF (27). Naime, PDGF aktivira ovaj enzim i na taj način podstiče sintezu RKV u ćeliji. RKV (superoksidni anjon O_2^- , vodonik-peroksid H_2O_2 i hidroksilni radikal $OH\cdot$) (tabela 3), potom stimulišu fosforilaciju p38 MAP kinaze, a posle toga se kaskadnom aktivacijom ostalih kinaza signal za proliferaciju prenosi u jedro. Ovaj signal deluje sinergistički i nezavisno od ERK signalnog puta. Adachi je sa svojim saradnicima na istim eksperimentalnim modelima takođe pokazao da inhibitori fosfoinozitol 3-kinaze istovremeno inhibiraju i NADPH oksidazu, što upućuje na pretpostavku da fosfoinozitol 3-kinaza svoje intracelularne efekte ostvaruje posredstvom produkcije RKV (27). Uz to, pretpostavlja se takođe da bi RKV mogle imati važnu ulogu u povezivanju različitih signalnih puteva pomoću kojih PDGF vrši svoju aktivnost (Tabela 3) (21).

PDGF ispoljava svoje fibrogene efekte i na posredan način. Tako, na primer, PDGF stimuliše produkciju faktora rasta vezivnog tkiva (CTGF – engl. *connective tissue growth factor*) posredstvom oslobađanja TGF- β , što je potvrđeno prisustvom neutrališućih antitela usmerenih protiv TGF- β , koja smanjuju sintezu i sekreciju CTGF (22). U remodelovanju, odnosno fibrozi i sužavanju disajnih puteva učestvuje i faktor rasta epiderma (EGF – engl. *epidermal growth factor*), koji se zajedno sa TGF- β oslobađa iz granula eozinofilnih leukocita i fibroblasta astmatičara (28).

Matriks metaloproteinaze. – Uporedo sa sekrecijom kolagena, iz fibroblasta se oslobađaju MMP (kolagenaze, gelatinaze, elastaza i stromelizin) (29). U razgradnji matriksa ovi enzimi iz grupe endopeptidaza imaju najznačajniju ulogu. MMP se obično luče u inaktivnom (zimogenom) obliku (30, 31). Njihovu aktivaciju, koja se odvija izvan ćelija, stimulišu mnogobrojni agensi (oksidacijski i mehanički stres, infekcije, solubilni produkti aktiviranih T limfocita, IL-1, TNF- α i drugi citokini) (31). Aktivirane MMP mogu da razlože sve komponente

vanćelijskog matriksa (kolagen, fibronektin, laminin, vimentin, proteoglikane /verzikan, biglikan, agrekan, dekorin/, elastin i dr.) (32–34). Pored toga, MMP mogu odsecati membranske molekule na površini aktiviranih makrofaga, kao što su receptor za TNF (TNF-RI) i/ili CD95 molekul (član familije receptora za TNF). To može imati za posledicu neadekvatnu indukciju apoptoze, čime se izbegava kaskada autoimunskih reakcija. Naime, za razliku od nekroze, apoptozom se uklanjaju aberantne ćelije, tj. sprečava se rasipanje endogeno nastalih skrivenih antigena (potencijalnih imunogena) (35).

Novija istraživanja ukazuju na centralnu ulogu MMP-2 u enzimskim procesima razgradnje ekstracelularnog matriksa. Fibroblasti i glatke mišićne ćelije predstavljaju primarni izvor ovog enzima, koji se najpre oslobađa kao proenzim molekulske mase 72 kD, a zatim se cepa u aktivni oblik od 62 kD. MMP-2 se aktivira na ćelijskoj površini posredstvom nedavno otkrivene grupe enzima, koji su vezani za membranu i označeni kao membranski tip (MT) MMP. Identifikovano je pet različitih MT-MMP (MT1-, 2-, 3-, 4- i 5- MMP). Oni čine posebne MT subklase MMP grupe i sekretuju se u rastvorljivom obliku (35). Istovremeno, pod uticajem IL-6, IL-10 i drugih antiinflamacijskih citokina fibroblasti oslobađaju i tkivne inhibitore MMP (14, 15). Tako, na primer, tkivni inhibitor MMP (TIMP-2), koji stvaraju fibroblasti je kofaktor potreban za aktivaciju MT1-MMP (35).

Smatra se PDGF i IL-1 u najvećoj meri regulišu ekspresiju MMP. Regulaciji ekspresije MMP značajno doprinose i PGE₂, kao i drugi metaboliti arahidonske kiseline (35). S tim u vezi, danas je poznato da PDGF, osim stimulacijskih, pokreće i inhibicijske signale kojima inhibiše rast i proliferaciju zvezdastih ćelija u jetri. Na taj način PDGF ograničava sopstveno dejstvo. U posredovanju inhibicijskih signala važnu ulogu imaju PGE₂ i ciklični adenzin monofosfat (cAMP). PDGF aktivira najpre konstitutivnu (COX-1), a zatim i inducibilnu ciklo-oksigenazu (COX-2) i na taj način stimuliše produkciju PGE₂. PGE₂, delujući autokrino, povećava koncentraciju intracelularnog cAMP-a, što dovodi do inhibicije Raf kinaze i sprečavanja deobe. Uz to PGE₂ povećava broj ET receptora na zvezdastim ćelijama u jetri i na taj način povećava njihovu osetljivost na ET, koji ima inhibicijsko dejstvo na rast ovih ćelija (22). Nasuprot tome, ET-1 koji se oslobađa iz endotela krvnih sudova disajnih puteva astmatičara (8), kao odgovor na stimulaciju trombinom, TGF- β , IL-1, adrenalinom, angiotenzinom II, arginin-vazopresinom i forbol-estrima (36), stimuliše proliferaciju fibroblasta (14, 15). Veći deo ET sekretuje se ka subendotelnom prostoru gde, putem ET_A receptora, deluje na glatku muskulaturu krvnih sudova dovodeći do inhibicije aktivnosti inducibilne azot monoksid sintetaze (NOS). Manji deo ET (otprilike 20%) se oslobađa u lumen

delujući na ET_B receptore. Aktivacija ovih receptora dovodi do oslobađanja azot monoksida (NO), koji po principu negativne povratne sprege inhibiše dalje stvaranje ET (36).

Promene u krvnim sudovima. – Vaskularna homeostaza kod obolelih od bronhijalne astme je narušena favorizovanjem vazokonstrikcije, tako da se arhitektonika krvnih sudova menja i omogućava nastanak patoloških promena u njihovim zidovima (37). Naime, kod astmatičara plućni kapilari su nepravilno smešteni oko zidova alveola. Karakteristična vaskularna lezija je intimalna proliferacija, koja dodatno sužava već sužene plućne arterije smeštene oko terminalnih respiracijskih bronhiola. Ovakva proliferacija može skoro potpuno da obliterira krvni sud. Identične promene mogu se videti i na plućnim venama, a dopunjuju ih još i trombi, koji se kasnije organizuju. Kod težih oblika bronhijalne astme, ovim promenama može da bude zahvaćena i bronhijalna vaskulatura (38, 39).

Kao posledica delovanja kiselog i baznog faktora rasta fibroblasta (aFGF – engl. *acid fibroblast growth factor*; bFGF – engl. *basic fibroblast growth factor*), vaskularnog endotelnog faktora rasta (VEGF – engl. *vascular endothelial growth factor*), onkostatina M i drugih angiogenih medijatora, u respiracijskom traktu astmatičara se odvija i proces stvaranja novih krvnih sudova (angioneogeneza) (40). Proliferacija endotelnih ćelija, fibroblasta i glatkih mišićnih ćelija koja tom prilikom nastaje, u zavisnosti od stepena sadejstva angiogenih medijatora sa drugim faktorima, receptorima i medijatorima signalne transdukcije, može da preraste u neointimalnu hiperplaziju (39, 41, 42).

FIBROBLASTI I OKSIDACIJSKO OŠTEĆENJE U BRONHIJALNOJ ASTMI

Pluća predstavljaju primarno ciljno tkivo za oksidacijsko oštećenje zbog svoje lokalizacije, anatomije i funkcije. U odnosu na druga tkiva ono je izloženo znatno višim pritiscima kiseonika (43). Dokazano je da se u toku astmatičnog napada povećava proizvodnja oksidanasa. Brojna istraživanja ukazuju da inflamacijske ćelije u krvi i disajnim putevima osoba obolelih od bronhijalne astme stvaraju veću količinu RKV u odnosu na zdrave osobe (2, 7, 8, 10, 12, 13, 16, 17, 28, 43). Metaboliti kiseonika čiji izvor su i fibroblasti, direktno oštećuju proteine ekstracelularnog matriksa i/ili slabe funkciju antiproteaza i/ili inaktiviraju enzime uključene u sintezu elastina i obnovu plućnog tkiva (slika 2). Pored toga, oni podstiču sekreciju sluzi i bronhokonstrikciju. Tako, na primer, H₂O₂ i izoprostan F_{2α}-III, čije su povišene vrednosti zabeležene u izdahnutom vazduhu astmatičara, izazivaju snažnu konstrikciju njihovih disajnih puteva (28).

Oksidansi fibroblasta i drugih metabolički aktivnih ćelija disajnih puteva astmatičara mogu da reaguju sa nukleinskim kiselinama, što može da dovede do disfunkcije ili smrti ćelije. Takođe, u uslovima oksidacijskog stresa aktivacijom transkripcijskog faktora NF-kappaB koji upravlja ekspresijom različitih inflamacijskih gena važnih za bronhijalnu astmu, kao što su IL-8 i TNFα, dodatno se podstiče zapaljenjski proces (slika 2) (44).

Delovanjem RKV na metilenske grupe nezasićenih lipida, koji se nalaze u membranama fibroblasta i drugih inflamacijskih ćelija, počinje proces lipidne peroksidacije. Jednom započeta, lipidna peroksidacija se brzo širi napadom lipidnih peroksid radikala na druge dvostruke veze polinezasićenih lipida, pri čemu nastaju hidroperoksidi, koji potom učestvuju u nastanku novih RKV (slika 2) (17, 43). S tim u vezi, u izdahnutom vazduhu astmatičara nađene su povećane koncentracije proizvoda oksidacijskog oštećenja lipida (etana, izoprostana i dr.). Lečenje glikokortikosteroidima smanjuje proizvodnju H₂O₂, etana i izoprostana, što dodatno potvrđuje da je bronhijalna inflamacija povezana sa oksidacijskim stresom (28). U prilog tome govori i povećana koncentracija nitrotirozina, koja je utvrđena u bronhoalveolarnoj lavaži (BAL) astmatičara (45).

U toku pogoršanja bronhijalne astme sadržaj NO u izdahnutom vazduhu je povišen (28). Oštećenje tkiva koje nastaje posle oslobađanja NO iz aktiviranih makrofaga ili endotelnih ćelija može ići po tipu nekroze ili apoptoze. Apoptozno dejstvo NO bazirano je na njegovoj citotoksičnosti i zavisi od stanja ćelije, kao i od interakcije sa specifičnim transkripcijskim proteinima. Pokazano je da NO ima povećan afinitet prema sulfhidrilnim (SH) grupama aktivnih centara enzima koji učestvuju u mitohondrijskom lancu transporta elektrona, ciklusu trikarbonskih kiselina i u sintezi DNK. Posledica inhibicije aktivnosti ovih enzima je povišeno stvaranje slobodnih radikala (46), koji u disajnim putevima astmatičara doprinose rasplamsavanju zapaljenjskog procesa (28). NO je veoma reaktivan i nestabilan oksidans, koji stupa u reakciju sa O₂- oslobodenim iz inflamacijskih ćelija (46). Tom prilikom nastaje peroksinitrit (ONOO⁻), koji uzrokuje bronhijalnu hiperreaktivnost (47), zahvaljujući svom visokom afinitetu prema redukovanom obliku glutaciona, ugljen-dioksidu, različitim tiolima i tirozinskim grupama (46).

Kod astmatičara je prisutno povećano oslobađanje acetilholina iz holinergijskih neurona usled stimulacije odgovarajućih neurona u bronhijama, jednjaku i sinusima (8). RKV inflamacijskih ćelija povećavaju osetljivost bronhijalnih glatkih mišića na konstriksijsko dejstvo acetilholina (6). Pojačanom dejstvu acetilholina kod astmatičara doprinosi i centralni nervni sistem koji aktivira vagus, kao i smanjena aktivnost acetilholine-

steraze. Međutim, biološki učinak acetilholina u ćelijama strukturnih tkiva disajnih puteva zavisi i od broja receptora na njihovoj površini i još uvek nedovoljno rasvetljenih postreptorskih zbivanja (8, 48).

ZAKLJUČAK

Patogeneza bronhijalne astme nije do kraja razjašnjena. Ono što se sa sigurnošću zna jeste da fibroblasti bitno doprinose njenom nastanku. Međutim, istraživanja interakcija fibroblastnih medijatora i citokina sa medijatorima i citokinima drugih inflamacijskih i metabolički aktivnih ćelija ostaju i dalje svojevrsan izazov čitavoj armiji istraživača u pokušaju pronalaženja efikasnijih lekova u terapiji bronhijalne astme.

LISTA SKRAĆENICA:

ACTH – adrenokortikotropni hormon (engl. *adrenocorticotrophic hormone*)

AM – alveolarni makrofag; BAL – bronhoalveolarna lavaža

cAMP – ciklični adenzin monofosfat; COX – ciklooksigenaza

CTGF – faktor rasta vezivnog tkiva (engl. *connective tissue growth factor*)

DNK – dezoksiribonukleinska kiselina

EGF – faktor rasta epiderma (engl. *epidermal growth factor*)

ERK – signalni put (engl. *extracellular signal-regulated kinase*); ET-1 – endotelin-1

Slika 2. Oksidacijsko oštećenje ćelija pluća

aFGF – kiseli faktor rasta fibroblasta (engl. *acid fibroblast growth factor*)
 bFGF – bazni faktor rasta fibroblasta (engl. *basic fibroblast growth factor*)
 G-CSF – faktor koji stimulira rast kolonija granulocita (engl. *granulocyte colony-stimulating factor*); GM-CSF – faktor koji stimulira rast kolonija granulocita i makrofaga (engl. *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*); H₂O₂ – vodonik-peroksid
 IL-1 – interleukin-1; IL-4 – interleukin-4; IL-6 – interleukin-6; IL-8 – interleukin-8
 IL-13 – interleukin-13; INF γ – interferon- γ ; KL – kit ligand; LTb4 – leukotrijen B4
 MCPi – monocitni hemotaksijski proteini (engl. *monocyte chemotactic proteins*)
 M-CSF – faktor koji stimulira rast kolonija monocita (engl. *monocyte colony-stimulating factor*)
 MMP-2 – matriks metaloproteinaza-2; MMP-9 – matriks metaloproteinaza-9
 (MT) MMP – membranski tip matriks metaloproteinaze
 NADPH oksidaza – nikotinamid-adenin-dinukleotid-fosfat oksidaza
 NO – azot-monoksid; NOS – azot-monoksid sintetaza
 O₂⁻ – superoksidni anjon; OH – hidroksilni radikal; ONOO⁻ – peroksininitrit
 PDGF – trombocitni faktor rasta (engl. *platelet derived growth factor*)
 PGE2 – prostaglandin E2; PMN – polimorfonuklearni leukociti
 RKV – reaktivne kiseoničke vrste; SCFi – faktori matičnih ćelija (engl. *stem cell factors*)
 SH – sulfhidrilna grupa
 TGF- β – transformišući faktor rasta- β (engl. *transforming growth factor- β*)
 TIMP-2 – tkivni inhibitor matriks metaloproteinaze-2
 TNF- α – faktor nekroze tumora- α (engl. *tumor necrosis factor- α*)
 VEGF – vaskularni endotelni faktor rasta (engl. *vascular endothelial growth factor*)

LITERATURA

- Đorđević Denić G. Patološka fiziologija respiracijskog sistema. U: Beleslin BB, Protić S, Đorđević Denić G, urednici. Specijalna patološka fiziologija. Beograd: DATA STATUS; 2008. 103–23.
- Jovičić Ž. Chronic inflammation in bronchial asthma. Medicinska istraživanja 1999; 33(3): 15–20.
- Lawrence T, Willoughby DA, Gilroy DW. Anti-inflammatory lipid mediators and insights into the resolution of inflammation. Immunology 2002; 2: 787–95.
- Tobin MJ. Asthma, airway biology, and nasal disorders in AJRCCM 2003. Am J Res Crit Care Med 2004; 169(2): 265–76.
- Kanazawa H, Nomura S, Yoshikawa J. Role of microvascular permeability on physiologic differences in asthma and eosinophilic bronchitis. Am J Respir Crit Care Med 2004. 169(10): 1125–230.
- Grootendorst DC, Rabe KF. Mechanisms of bronchial hyperreactivity in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. Proceedings of the ATS 2004; 1(2): 77–87.
- Vučević D, Radosavljević T, Đorđević Denić G. Uloga eozinofilnih leukocita u patogenezi bronhijalne astme. Jugoslav Med Biohem 2004. 23(4): 333–41.
- Tanurdžić SM. Bronhijalna astma. Beograd: TIMGRAF; 2004.
- Roche WR, Williams JH, Beasley R, Holgate ST. Subepithelial fibrosis in the bronchi of asthmatics. Lancet 1989; 1: 520–4.
- Louis R, Lau LC, Bron AO, Roldaan AC, Radermecker M, Đukanović R. The relationship between airways inflammation and asthma severity. Am J Respir Crit Care Med. 2000; 161: 9–16.
- Holgate ST, Lackie P, Wilson S, Roche W, Davies D. Bronchial epithelium as a key regulator of airway allergen sensitization and remodeling in asthma. Am J Respir Crit Care Med. 2000; 162: S113–7.
- Bel EH. Severe asthma. Breathe 2006; 3(2): 129–39.
- Fabbri L, Peters SP, Pavord I, et al. Allergic rhinitis, asthma, airway biology and chronic obstructive pulmonary disease in AJRCCM in 2004. Am J Respir Crit Care Med. 2005; 171: 686–98.
- Kirpalani H, Gauldie J. Differentiation and effector function of pulmonary fibroblasts. In: Busse WW, Holgate ST, eds. Asthma and Rhinitis. Cambridge: Blackwell Science; 1995: 539–53.
- Roche WR. Fibroblasts and extracellular matrix in bronchial asthma. In: Busse WW, Holgate ST, eds. Asthma and Rhinitis. Cambridge: Blackwell Science; 1995: 554–62.
- Piotrowski WJ, Marezak J. Cellular sources of oxidants in the lung. Int J Occup Med Environ Health 2000; 13(4): 369–85.
- Vučević D, Radosavljević T, Žunić S, Đorđević Denić G, Pešić ČB, Radak Đ. Uloga oksidativnog stresa u patogenezi plućnog emfizema. Med Pregl. 2005; 58(9–10): 472–77.
- Vučević D, Radak Đ. Eikosanoidi u ishemiji mozga. U: Vučević D, Ilijevski N, Radak Đ, Đorđević Denić G, urednici. Patološka dinamika cerebralne ishemije. Beograd: Mladost biro; 2006: 55–60.

19. Williams TJ. The eosinophil enigma. *J Clin Invest* 2004; 113(4): 507–9.
20. Amrani Y, Panettieri RA. Airway smooth muscle: contraction and beyond. *Int J Biochem Cell Biol*. 2003; 35(3): 272–6.
21. Mladenović D, Radosavljević T, Vučević D. Uloga faktora rasta poreklom iz trombocita u procesu fibrogeneze u jetri. *Zvezdara Clin Proc* 2006; 7(1–2):30–3.
22. Bonner JC. Regulation of PDGF and its receptors in fibrotic diseases. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2004; 15: 255–73.
23. Breitkopf K, Roeyen C, Sawitza I, Wickert L, Floege J, Gressner AM. Expression patterns of PDGF-A, -B, -C and -D and the PDGF receptors alpha and beta in activated rat hepatic stellate cells (HSC). *Cytokine* 2005; 31: 349–57.
24. Novosyadly R, Dudas J, Pannem R, Ramadori G, Scharf JG. Crosstalk between PDGF and IGF-1 receptors in rat liver myofibroblasts: implication for liver fibrogenesis. *Lab Invest*. 2006; 86: 710–23.
25. Czochra P, Klopčič B, Meyer E, et al. Liver fibrosis induced by hepatic overexpression of PDGF-B in transgenic mice. *J Hepatol*. 2006; 45: 419–28.
26. Failli P, Ruocco C, De Franco R, et al. The mitogenic effect of platelet-derived growth factor in human hepatic stellate cells requires calcium influx. *Am J Physiol*. 1995; 269: 1133–9.
27. Adachi T, Togashi H, Suzuki A, et al. NAD(P)H oxidase plays a crucial role in PDGF-induced proliferation of hepatic stellate cells. *Hepatol* 2005; 41: 1272–81.
28. Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Diseases. National Heart, Lung and Blood Institute and World Health Organization. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 46: 798–825.
29. Vučević D, Radak Đ, Radosavljević T, Mladenović D, Milovanović I. Fibrozni plak kao metabolički stadijum aterogeneze. *Medicinska istraživanja* 2009; 43(1): 35–47.
30. Jacob MP. Extracellular matrix remodeling and matrix metalloproteinases in the vascular wall during aging and in pathological conditions. *Biomed Pharmacother*. 2003; 57: 195–202.
31. Mott JD, Werb Z. Regulation of matrix biology by matrix metalloproteinases. *Curr Opin Cell Biol*. 2004; 16: 558–64.
32. Saunders WB, Bayless KJ, Davis GE. MMP-1 activation by serine proteases and MMP-10 induces human capillary tubular network collapse and regression in 3D collagen matrices. *J Cell Sci* 2005; 118: 2325–40.
33. Tchougounova E, Lundquist A, Fajardo I, Winberg JO, Abrink M, Pejler G. A key role for mast cell chymase in the activation of promatrix metalloprotease-9 and pro-matrix metalloprotease-2. *J Biol Chem*. 2005; 280: 9291–6.
34. Newby AC. Dual role of matrix metalloproteinases (matrixins) in intimal thickening and atherosclerotic plaque rupture. *Physiol Rev*. 2005; 85: 1–31.
35. Maravić-Stojković V, Radak Đ, Popov P. Kolagen i ekstracelularni matriks. U: Radak Đ, Maravić-Stojković V, urednici. *Imunologija u genezi i terapiji ateroskleroze*. Beograd: DC Grafički centar; 2004. 69–74.
36. Vučević D, Radak Đ, Ilijevski N. Endotelini i homocistein u ishemiji mozga. U: Vučević D, Ilijevski N, Radak Đ, Đorđević Denić G, urednici. *Patološka dinamika cerebralne ishemije*. Beograd: Mladost biro; 2006. 67–73.
37. Chalmers GW, Macleod KJ, Sriram S, et al. Sputum endothelin-1 is increased in cystic fibrosis and chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 1999; 13: 1288–92.
38. Wright JL, Lawson L, Pare PD, et al. The structure and function of the pulmonary vasculature in mild chronic obstructive pulmonary disease. The effect of oxygen and exercise. *Am Rev Respir Dis* 1983; 128: 702–7.
39. Peinado VI, Barbera JA, Ramirez J, et al. Endothelial dysfunction in pulmonary arteries of patients with mild COPD. *Am J Physiol* 1998; 274: L908–9013.
40. Peinado VI, Barbera JA, Abate P, et al. Inflammatory reaction in pulmonary muscular arteries of patients with mild chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 1605–11.
41. Pasterkamp G, Galis ZS, De Kleijn DP. Expansive arterial remodelling: location, location, location. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 650–7.
42. Unger EF. Pharmacological colateralisation with bFGF. *Scios Nova* 1995; 147: 4–17.
43. Del Donno M, Verduri A. Oxidants and antioxidants in pulmonary diseases. *Eur Respir News Suppl* 2000: 1–48.
44. Gagliardo R, Chanez P, Mathieu M, et al. Persistent activation of nuclear factor-kappaB signaling pathway in severe uncontrolled asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168: 1190–8.
45. Hanazawa T, Kharitonov SA, Barnes PJ. Increased nitrotyrosine in exhaled breath condensate of patients

- with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1273–6.
46. Vučević D, Đorđević Denić G. Slobodni radikali u ishemiji mozga. U: Vučević D, Ilijevski N, Radak Đ, Đorđević Denić G, urednici. *Patološka dinamika cerebralne ishemije*. Beograd: Mladost biro; 2006. 29–40.
47. Sadeghi-Hashjin G, Folkers G, Henricks PA, et al. Peroxynitrite induces airway hyperresponsiveness in guinea pigs in vitro and in vivo. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 1697–701.
48. Vučević D, Petronijević N, Radonjić N, et al. Acetylcholinesterase as a potential target of acute neurotoxic effects of lindane in rats. *Gen Physiol Biophys* 2009; 28: 18–24.