

mgr Małgorzata Proboszcz

**Fenotypowanie astmy i przewlekłej obturacyjnej
choroby płuc na podstawie wybranych cech
klinicznych i markerów stanu zapalnego układu
oddechowego**

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: dr hab. n. med. Tadeusz Przybyłowski

Promotor pomocniczy: dr n. med. Patrycja Nejman-Gryz

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2022

Małgorzata Proboszcz

Patrycja Nejman-Gryz

Streszczenie w języku polskim

Astma i przewlekła obturacyjna choroba płuc (POChP) to najczęstsze przewlekłe choroby zapalne układu oddechowego, których wspólną cechą jest ograniczenie przepływu powietrza przez drogi oddechowe. Ich istotą jest stan zapalny w dolnych drogach oddechowych, którego konsekwencją są kliniczne manifestacje choroby i przebudowa ścian oskrzeli. Zarówno astma, jak i POChP charakteryzują się dużym zróżnicowaniem przebiegu klinicznego, nasilenia zaburzeń czynności układu oddechowego oraz typu zapalenia. W konsekwencji, niektórzy chorzy na astmę mogą wykazywać cechy chorobowe zbliżone do POChP i odwrotnie. W ostatnich latach wiele uwagi poświęca się poszczególnym cechom obu tych chorób, które mogłyby stanowić cel potencjalnej interwencji terapeutycznej. Ten sposób postrzegania chorób obturacyjnych przypisuje mniejszą wagę do rozpoznania jednostki chorobowej (astma lub POChP), a znacznie większą do identyfikacji pacjentów ze stosunkowo jednorodnym fenotypem lub endotypem choroby. Jak dotąd, podstawą do wyróżnienia głównych fenotypów astmy i POChP były cechy kliniczne i radiologiczne. Innym ważnym czynnikiem określającym fenotypy obturacyjnych chorób płuc jest profil zapalenia dróg oddechowych definiowany przez typ komórek dominujących w nacieku zapalnym. Badania nad komórkowymi i molekularnymi fenotypami umożliwiają indywidualizację leczenia, ale także pokazują, jak różnorodne i często zbieżne procesy zapalne kierunkują rozwój astmy i POChP. Chociaż znaczna część badań nad procesami zapalnymi dotyczy astmy i POChP o ciężkim przebiegu lub w trakcie zaostrzeń, to jednak wiadomo, że różnice oraz podobieństwa na poziomie molekularnej patogenezы pojawiają się już na wczesnym etapie choroby.

W niniejszej pracy doktorskiej przedstawiono wyniki badań nad heterogennością procesu zapalnego w astmie i POChP w badaniach *in vitro* oraz z wykorzystaniem materiałów biologicznych uzyskanych od chorych. W ramach projektu podjęto próbę odpowiedzi na następujące pytania: (1) czy u chorych z pewnym rozpoznaniem klinicznym astmy lub POChP o łagodnym lub umiarkowanym przebiegu występuje heterogenność w zakresie wydzielanych cytokin w drogach oddechowych i w jakim stopniu mają one związek z charakterystyką kliniczną?; (2) czy występuje korelacja pomiędzy liczbą eozynofilów w drogach oddechowych i we krwi u chorych na POChP oraz (3) czy występuje zależność pomiędzy liczbą eozynofilów w płwocinie indukowanej, we krwi, nadreaktywnością oskrzeli oraz wynikiem spirometrycznej próby rozkurczowej?; (4) czy stężenie cytokin prozapalnych wydzielanych przez komórki dendrytyczne zależy jest od interakcji z innymi komórkami immunologicznie aktywnymi w drogach oddechowych (makrofagami

i komórki nabłonkowymi)?; (5) czy istnieje różnica w liczbie makrofagów z ekspresją receptora IL17RA w drogach oddechowych chorych na astmę atopową i nieatopową?

Metodyka badania obejmowała nabór chorych na astmę i POChP oraz zdrowych ochotników, przeprowadzenie u nich indukcji płwociny, wymazu z nosa, badań czynnościowych układu oddechowego, pomiaru stężenia tlenu azotu w wydychanym powietrzu, punktowych testów skórnych oraz pobranie próbki krwi żyłnej. Płwocina indukowana posłużyła jako materiał do oceny profilu zapalenia oraz wydzielanych cytokin bezpośrednio w miejscu toczącego się zapalenia. Pobranie wymazu z błony śluzowej nosa umożliwiło wyprowadzenie hodowli pierwotnych komórek nabłonka oraz wykorzystanie ich jako modelu do oceny interakcji z makrofagami i komórkami dendrytycznymi pozyskanymi z monocytów krwi obwodowej. W tym celu zaadaptowano model trójwarstwowej hodowli *in vitro* na styku fazy ciekłej i powietrza (ALI), który odzwierciedla warunki *in vivo* obecne w drogach oddechowych. Wyniki przeprowadzonych doświadczeń i analiz przedstawione zostały w formie opublikowanych artykułów stanowiących poszczególne rozdziały pracy doktorskiej.

Najważniejsze wyniki przeprowadzonych badań obejmują wykazanie, że (1) wśród pacjentów z łagodną lub umiarkowaną postacią choroby obturacyjnej profil zapalenia w drogach oddechowych jest zróżnicowany i nie jest swoisty dla rozpoznania klinicznego (astma lub POChP), ani wyników badań czynnościowych; (2) liczba eozynofiliów w drogach oddechowych nie wykazuje korelacji z liczbą eozynofiliów we krwi obwodowej u chorych na łagodną lub umiarkowaną postać POChP oraz że (3) nadreaktywność oskrzeli oraz dodatnia próba rozkurczowa nie wykazują związku z liczbą eozynofiliów w drogach oddechowych i/lub krwi; (4) ekspresja mRNA dla TSLP, IL-33 i IL-17A oraz ekspresja ich receptorów na komórkach dendrytycznych zależy od użytego schematu doświadczalnego mono- lub wielokomórkowego; (5) astmę atopową charakteryzuje podwyższone stężenie IL-25 oraz zwiększony odsetek makrofagów CD206 z ekspresją IL17RA w drogach oddechowych, co wskazuje na odmienną rolę IL-25 w patogenezie astmy atopowej niż w nieatopowej postaci tej choroby.