

STRESZCZENIE PRACY DOKTORSKIEJ W JĘZYKU POLSKIM

WSTĘP:

Astma jest przewlekłą, zapalną i heterogenną chorobą dróg oddechowych, której objawy obejmują duszność, świszczący oddech i kaszel o zróżnicowanym nasileniu. Obraz kliniczny wynika ze zmiennego ograniczenia przepływu powietrza przez drogi oddechowe, powiązanego ze stanem zapalnym dróg oddechowych oraz nadreaktywnością i przebudową oskrzeli.

Wśród pacjentów z astmą wykazano zwiększone ryzyko wystąpienia żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej. Na podstawie analizy profilu generacji trombiny u chorych na astmę stwierdzono wzrost aktywności prozakrzepowej osocza. Zaobserwowano również wydłużenie czasu lizy skrzepu. Ponadto przedstawiono dowody lokalnej aktywacji krzepnięcia w drogach oddechowych.

Przyspieszony rozwój miażdżycy jest obserwowany w przebiegu wielu przewlekłych chorób zapalnych. Badania naukowe w astmie wykazały zmniejszoną rozszerzalność tętnicy ramiennej pod wpływem zwiększonego przepływu (*flow-mediated dilatation*, FMD) oraz podwyższenie prędkości fali tętna (*pulse wave velocity*, PWV) wskazujące na występowanie zaburzeń funkcji śródbłonna. Pogrubienie kompleksu błon środkowej i wewnętrznej tętnicy szyjnej wspólnej (*carotid intima-media thickness*, CIMT), wykazane także w astmie, może świadczyć o zwiększonym ryzyku sercowo-naczyniowym. Większość badań nad epidemiologią chorób sercowo-naczyniowych w populacjach chorych na astmę przemawia również za podwyższonym ryzykiem choroby niedokrwiennej serca i udaru mózgu w tej grupie.

Obecnie wiedza na temat powiązań między patomechanizmem astmy i zwiększonym ryzykiem zakrzepowo-zatorowym oraz sercowo-naczyniowym jest ograniczona.

Komórkowa fibronektyna (*cellular fibronectin*, cFn) jest glikoproteiną uwalnianą w odpowiedzi na uszkodzenie śródbłonna. Dostępne dane wskazują na jej prozakrzepowy potencjał *in vivo* oraz na możliwy udział w regulacji przebudowy ściany naczyń krwionośnych. Jednocześnie cFn jest zaangażowana w przebudowę dróg oddechowych. Przyjęliśmy hipotezę, że w astmie cFn może być powiązana z zaburzeniami krzepnięcia (artykuł I.).

Fosfolipaza A₂ związana z lipoproteinami (*lipoprotein-associated phospholipase A₂*, Lp-PLA₂) bierze udział w patogenezie miażdżycy. Jedną z funkcji Lp-PLA₂ jest degradacja czynnika aktywującego płytki krwi (*platelet activating factor*, PAF), prozakrzepowego i prozapalnego mediatora, którego aktywność obserwuje się w astmie. Lp-PLA₂ wykazuje również funkcję antyoksydacyjną. Założyliśmy, że u chorych na astmę Lp-PLA₂ może być powiązana ze stanem prozakrzepowym (artykuł II.).

Cytrulinowany histon 3 (*citrullinated histone 3*, H3cit) jest swoistym markerem tworzenia pozakomórkowych pułapek neutrofilowych (*neutrophil extracellular traps*, NETs). Udział NETs w mechanizmach prozakrzepowych został dobrze udokumentowany. Uważa się, że w astmie pozakomórkowe pułapki mogą brać udział w przewlekłym zapaleniu dróg oddechowych. Przyjęliśmy hipotezę, że stężenie H3cit we krwi astmatyków w stabilnym okresie choroby może być podwyższone (artykuł III.).

MATERIAL I METODY:

Badanie miało charakter obserwacyjny i przekrojowy. Zostało przeprowadzone w II Katedrze Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Jagiellońskiego, Collegium Medicum w Krakowie, w Klinikach Alergii i Immunologii oraz Pulmonologii. Włączano dorosłych pacjentów z klinicznie stabilną astmą, definiowaną jako brak zaostrzenia choroby w okresie 6 miesięcy poprzedzających badanie. W kolejnych publikacjach analizowano osoczowe stężenie cFn, aktywność osoczową Lp-PLA₂ i surowicze stężenie H3cit, w powiązaniu ze stopniem ciężkości astmy, wynikami badań czynnościowych płuc, biomarkerami systemowego zapalenia oraz, w dwóch pierwszych publikacjach, także z osoczową aktywacją krzepnięcia. Pierwsza część przeprowadzonych badań objęła 164 chorych z astmą (artykuły I. i II.). Do grupy kontrolnej włączono 72 osoby. Dalsza część badań objęła 60 chorych na astmę, u których wykonano również bronchoskopię oraz analizę składu komórkowego i stężeń cytokin w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych (*bronchoalveolar lavage fluid*, BALF) (artykuł III.). W tej części do grupy kontrolnej włączono 50 osób. Grupy kontrolne dobrano z uwzględnieniem płci, wieku, wskaźnika masy ciała (*body mass index*, BMI) i chorób towarzyszących.

PODSUMOWANIE WYNIKÓW:

ARTYKUŁ I:

W astmie wykazano istotnie podwyższone stężenie osoczowej cFn w porównaniu do grupy kontrolnej (4,11 [3,30-4,95] vs. 2,06 [1,46-2,59] µg/ml; p<0,001). Ponadto cFn

była dodatnio powiązana ze wskaźnikami zapalenia, tj. stężeniem białka C-reaktywnego ($\beta = 0,24$ [95%CI: 0,16–0,32]) oraz interleukiny 6 ($\beta = 0,23$ [95%CI: 0,15–0,30]), natomiast zależność pomiędzy cFn i FEV₁/VC była ujemna ($\beta = -0,15$ [95%CI: -0,23 do -0,07]). Model regresji wielorakiej wykazał, że podwyższone cFn w astmie było najsilniejszym czynnikiem predykcyjnym dla niekorzystnie wzmożonego potencjału generacji trombiny (*endogenous thrombin potential*, ETP) i przedłużonego czasu lizy skrzepu (*clot lysis time*, CLT) wśród zmiennych ocenionych w badaniu.

ARTYKUŁ II:

Aktywność osoczowa Lp-PLA₂ w ciężkiej astmie była niższa niż w ocenionych łącznie grupach łagodnej i umiarkowanej astmy (203 [181–229] vs. 224 [191–261] nmol/min/ml; $p=0,006$ po uwzględnieniu zmiennych towarzyszących). Ponadto w astmie stwierdzono ujemną zależność pomiędzy Lp-PLA₂ i markerami układowego zapalenia, w szczególności czynnikiem martwicy nowotworów α (*tumor necrosis factor α* , TNF α) ($\beta = -0,27$ [95%CI: -0,35 do -0,20]) i białkiem C-reaktywnym ($\beta = -0,1$ [95%CI: -0,19 do -0,02]), oraz między Lp-PLA₂ i parametrami osoczowej generacji trombiny (dla ETP: $\beta = -0,14$ [95%CI: -0,21 do -0,06]).

ARTYKUŁ III:

W astmie stwierdzono podwyższone stężenie H3cit w surowicy krwi w porównaniu do grupy kontrolnej (17,49 [11,25–22,58] vs. 13,66 [8,66–18,87] ng/ml; $p=0,03$). Stosowanie systemowych glikokortykosteroidów było powiązane z dalszym zwiększeniem stężenia surowiczego H3cit (21,07 [15,90–32,00] vs. 16,21 [10,52–20,27] ng/ml, $p=0,02$). Wśród chorych z astmą wykazano dodatnią zależność między H3cit i pojemnością życiową płuc ($\beta = 0,37$ [95%CI: 0,24–0,50]).

WNIOSKI:

ARTYKUŁ I:

Po raz pierwszy wykazano podwyższone stężenie cFn we krwi obwodowej u chorych na astmę oraz wskazano jej powiązanie ze stopniem ciężkości choroby, aktywacją krzepnięcia i markerami zapalenia. Uzyskane wyniki sugerują, że cFn może być modulatorem aktywności prozakrzepowej w astmie.

ARTYKUŁ II:

Niższa aktywność osoczowa Lp-PLA₂ w ciężkiej astmie w porównaniu do astmy łagodnej i umiarkowanej może przemawiać za odmiennością patomechanizmu ciężkich

postaci choroby. Negatywna zależność pomiędzy Lp-PLA₂ a markerami zapalenia i parametrami generacji trombiny sugerują, że Lp-PLA₂ może nie być adekwatnym markerem oceny ryzyka sercowo-naczyniowego u chorych z astmą. W ciężkiej astmie obniżona aktywność Lp-PLA₂ może wpływać niekorzystnie na nasilenie stresu oksydacyjnego.

ARTYKUŁ III:

Po raz pierwszy wykazano podwyższone stężenie krążącego H3cit w astmie. Dodatnia zależność między H3cit a pojemnością życiową płuc może sugerować, że zwiększenie H3cit we krwi jest powiązane ze stanem zapalnym w płucach. Potrzebne są dalsze badania, aby określić związek pozakomórkowych pułapek i zwiększonego ryzyka zakrzepowo-zatorowego w astmie.