

Plwocina indukowana (induced sputum; IS) służy do oznaczania mediatorów stanu zapalnego błony śluzowej oskrzeli u chorych na astmę. Choroba dróg oddechowych zaostrzana przez aspirynę (aspirin-exacerbated respiratory disease; AERD) to jeden z fenotypów astmy. AERD najczęściej ma ciężki przebieg, charakteryzuje się zwykle eozynofilowym zapaleniem dróg oddechowych ze zwiększonym wytwarzaniem biomarkerów prozapalnych, takich jak cytokiny alarmowe śród błonka (IL-33, IL-25 i TSLP), które mogą aktywować wrodzone komórki limfoidalne typu 2 (innate lymphoid cells type 2; ILC2s). Aktywacja ILC2s zależy od miejscowego uszkodzenia nabłonka dróg oddechowych co prowadzi do wytwarzania prozapalnych cytokin. Wykazano, że ILC2s są rekrutowane do błony śluzowej nosa u chorych na AERD po podaniu inhibitora cyclooxygenazy-1 (COX-1), co koreluje ze zwiększoną produkcją prostaglandyny D2 (PGD2) i leukotrienów cysteinylowych (cys-LTs) w moczu. Aktywowane komórki ILC2 przez PGD2 i cys-LTs rekrutują i aktywują zarówno eozynofile jak i komórki tuczne do błony śluzowej oskrzeli poprzez wytwarzanie takich cytokin jak IL-5 i IL-9.

Celem badania jest ocena zmian (1) liczby i(lub) odsetka, (2) fenotypu oraz (3) cech funkcjonalnych komórek ILC2 zarówno w surowicy jak i w plwocinie: wyjściowo przed testem prowokacyjnym z aspiryną w porównaniu do wartości kiedy to wystąpi ostry skurcz oskrzeli indukowany aspiryną u chorych na AERD. Fenotyp będzie oceniony na podstawie ekspresji niektórych markerów powierzchniowych (CD127+, CD161+, CRTH2+, EP2, EP4) i śródkomórkowych (IL-5, IL-13) komórek ILC2 (wysoki vs niski poziom ekspresji). Do tej pory nie wykonywano tego typu badań.

Następujące badania będą wykonane dwukrotnie, wyjściowo przed doustnym testem prowokacyjnym z aspiryną i podczas ostrego skurczu oskrzeli wywołanego przez aspirynę u chorych na AERD:

(1) odsetek oraz liczba ILC2s w surowicy i plwocinie (CD161 +, CRTH2 +, EP2 +, EP4 +) za pomocą analizy cytometrii przepływowej, **(2)** fenotypowanie komórek ILC2 w surowicy i plwocinie na podstawie ekspresji receptorów CRTH2+ i EP2+, EP4+. CRTH2 jest receptorem dla PGD2, a EP2 i EP4 to receptory dla PGE2, **(3)** analiza funkcjonalna komórek ILC2 w surowicy i plwocinie na podstawie wewnątrzkomórkowej ekspresji IL-5+ i IL-13+, **(4)** ocena wpływu aspiryny na nabłonkowe wytwarzanie IL-33, TSLP i IL-25 (interleukin bezpośrednio aktywujących ILC2s). Poziomy IL-33, TSLP i IL-25 będą oznaczane przy użyciu zestawu ELISA zarówno w surowicy jak i supernatancie plwociny, **(5)** oznaczenie poziomu cytokin typu 2 (IL-4, IL-5, IL-6, IL-9 i IL-13) za pomocą ELISA w surowicy i supernatancie plwociny **(6)** poziom niektórych eikozanoidów (leukotrienów C4, D4, E4, PGD2 i PGE2) w supernatancie plwociny przy użyciu spektrometrii masowej i metabolitu PGD2 oraz LTE4 w moczu przy użyciu testu ELISA, **(7)** ustalenie komórkowego fenotypu chorych na podstawie preparatów cytospinowych indukowanej plwociny, **(8)** pomiar neutrofilów oraz IL6, IL8 i IL17 zarówno w surowicy jak i plwocinie **(9)** pomiar FeNO w wydychanym powietrzu za pomocą standardowych metod.

Powody wyboru tematu badań: Badania mają na celu przede wszystkim poszerzenie i zdobycie nowej wiedzy dotyczącej wpływu aspiryny na liczbę, fenotyp i cechy funkcjonalne ILC2s w surowicy i plwocinie u chorych na AERD. A jeszcze ważniejsze jest to, że wyniki tego badania dostarczą dowodów potwierdzających rolę efektorową komórek ILC2 u chorych na AERD, co może mieć istotne implikacje kliniczne dotyczące terapii anty-ILC2 (anty-CRTH +, anty-IL-13) chorych na astmę z nadwrażliwością na aspirynę.