

Włóknienie płuc jest coraz częstszą patologią w starzejącej się populacji światowej. Niestety, jest to zaburzenie źle rokujące: obecnie nie jest znany żaden skuteczny sposób jego leczenia a czas przeżycia jest dramatycznie niski (3-5 lat). Spośród wielu chorób układu oddechowego w przebiegu których dochodzi do włóknienia płuc alergiczne zapalenie pęcherzyków płucnych (AZPP) jest jedną z niewielu o znanej etiologii. Przyczyną AZPP jest przewlekłe narażenie organizmu na pył organiczny (cząsteczki pochodzenia roślinnego, zwierzęcego lub mikrobiologicznego) lub pył nieorganiczny (niektóre metale). Obecnie zidentyfikowanych jest ponad 200 antygenów wywołujących AZPP, które powszechnie występują w domach, miejscach pracy i wypoczynku. W konsekwencji AZPP jest jedną z najczęstszych przyczyn włóknienia płuc na świecie. Powtarzające się uszkodzenia nabłonka oddechowego wywołane przewlekłą ekspozycją na antygeny prowadzą u osób wrażliwych do nadmiernej reakcji ze strony układu odpornościowego oraz do zaburzeń naprawy tkankowej u podłoża, których leży m.in. zjawisko przemiany epitelialno-mezenchymalnej (EMT- proces polegający na przekształcaniu komórek nabłonka w zdolne do migracji komórki o fenotypie mezenchymalnym). Ostatnie badania wykazały, że w AZPP stan zapalny oraz EMT wzajemnie się napędzają aż do punktu w którym procesu włóknienia nie można już zahamować poprzez wyciszenie reakcji zapalnych. Ponieważ u podstaw włóknienia płuc leżą wywołane przewlekłym stanem zapalnym zaburzenia naprawy uszkodzonego nabłonka zakładamy, że skuteczna terapia powinna łączyć w sobie przywracanie równowagi immunologicznej z hamowaniem EMT. Na podstawie danych literaturowych wydaje się, że aktywna biologicznie postać witaminy D3 (kalcytriol) doskonale spełnia te kryteria, ponieważ: 1) wpływa na komórki zaangażowane w odpowiedź immunologiczną płuc na antygeny środowiskowe, a zatem może regulować rozwój włóknienia płuc w przebiegu HP; 2) moduluje ekspresję katelicydiny (peptyd odpornościowy), której znaczenie dla włóknienia płuc wykazała nasza grupa badawcza; 3) hamuje EMT poprzez indukcję ekspresji genów odpowiedzialnych za nabycie i utrzymanie fenotypu nabłonkowego. Ponadto, kalcytriol reguluje ekspresję kluczowych czynników transkrypcyjnych EMT.

Celem projektu jest ocena możliwości wykorzystania witaminy D3 w prewencji i leczeniu włóknienia płuc. By osiągnąć ten cel zostanie zbadany wpływ witaminy D3 na tkankę płuc w warunkach fizjologicznych i patologicznych, jak również zostanie określony molekularny mechanizm jej działania w mysim modelu AZPP. Badania zostaną przeprowadzone z użyciem zarówno 1,25(OH)₂-witaminy D3 (forma biologicznie aktywna), jak i 25(OH)-witaminy D3 (prekursor kalcytriolu) podanych bezpośrednio do płuc w drodze nebulizacji. Ponadto, rozwój włóknienia płuc będzie monitorowany u myszy na diecie o standardowej i obniżonej zawartości witaminy D3 (odniesienie do niedoboru witaminy D3, który jest powszechnym zjawiskiem w społeczeństwie).

Badania zostaną przeprowadzone w mysim modelu AZPP, w którym włóknienie płuc jest indukowane przez przewlekłą ekspozycję myszy szczepu C57BL/6J (predysponowane do włóknienia) na ekstrakt *Pantoea agglomerans* (jeden z ważniejszych czynników etiologicznych AZPP). Antygen *P. agglomerans* oraz metabolity witaminy D3 zostaną wprowadzone do dróg oddechowych myszy przy użyciu wieży inhalacyjnej. Grupy badane zostały tak dobrane by możliwym było uzyskanie odpowiedzi na następujące pytania: Jaki wpływ na rozwój włóknienia płuc w mysim modelu AZPP ma zawartość witaminy D3 w diecie? Jak inhalacje metabolitami witaminy D3 wpływają na tkankę płucną w warunkach fizjologicznych i patologicznych? Czy inhalacje metabolitami witaminy D3 mogą zapobiec lub zahamować rozwój włóknienia płuc w mysim modelu AZPP? Odpowiedzi na powyższe pytania dostarczą wyniki analizy parametrów oddechowych myszy oraz wyniki oceny pobranych próbek krwi i płuc. Próbkę tkanki płuc zostaną poddane następującym analizom: • badanie histopatologiczne pod kątem oznak stanu zapalnego oraz włóknienia; • pomiar markerów włóknienia; • analiza subpopulacji komórek płuc zaangażowanych w odpowiedź immunologiczną na antygen; • pomiar stężenia katelicydiny, cytokin i czynników wzrostu uczestniczących w rozwoju włóknienia; • analiza ekspresji genów i białek zaangażowanych w EMT. Ponadto, pobrane próbki krwi posłużą do określenia endogenne poziomu 1,25(OH)₂-witaminy D3, który jest niezbędny do prawidłowej interpretacji pozostałych wyników badań.

Ze względu na wyjątkowe właściwości witaminy D3 i jej pochodne stały się celem nowych strategii terapeutycznych, w tym stosowania w przewlekłych chorobach płuc, zwłaszcza jako preparaty immunomodulacyjne i przeciwbakteryjne. Jednak według naszej wiedzy prezentowany projekt jest pierwszą próbą wykorzystania witaminy D3 w profilaktyce i leczeniu włóknienia płuc w przebiegu AZPP. Aby zminimalizować niebezpieczeństwo ogólnoustrojowej toksyczności, witamina D3 będzie dostarczana bezpośrednio do płuc poprzez nebulizację, co także jest nowatorskim podejściem, jak również przewidywanym sposobem jej dostarczania w leczeniu włóknienia płuc u ludzi. Efektem końcowym projektu będzie: potwierdzenia lub wykluczenia możliwości stosowania witaminy D3 w profilaktyce i/lub leczeniu włóknienia płuc; określenie wpływu witaminy D3 (obecnej w pożywieniu oraz jej metabolitów dostarczanych przez nebulizację) na tkankę płucną w warunkach fizjologicznych i patologicznych; pogłębienie wiedzy i zrozumienia molekularnego mechanizmu działania witaminy D3 podczas rozwoju HP, ze szczególnym uwzględnieniem jej wpływu na EMT, odpowiedź immunologiczną oraz endogenne stężenie katelicydiny. Pozytywne wyniki mogą stać się punktem wyjścia do badań klinicznych i być może kamieniem milowym w rozwoju skutecznej i bezpiecznej strategii zapobiegania i/lub leczenia włóknienia płuc.