

## **Nasilenie odpowiedzi immunologicznej człowieka w stosunku do właściwości alergizujących podjednostek i frakcji białek pyłku brzozy brodawkowatej (*Betula pendula*) na tle zanieczyszczenia powietrza**

Problemem naukowym, którego rozwiązanie planowane jest w trakcie realizacji projektu, jest stwierdzenie, czy i w jaki sposób zmienia się odpowiedź immunologiczna u osób z alergią na pyłek brzozy w zależności od stopnia zanieczyszczenia antropogenicznego środowiska, w którym rosły i rozwijały się oceniane drzewa. Zostało dowiedzione, że substancje chemiczne zawarte w pyłku zawieszonym, szczególnie w środowisku miejskim, stanowią źródło stresu abiotycznego dla roślin i mogą zaburzać w ekspresję genów kodujących białka odpowiedzialne za odporność roślin na stres i ingerować w strukturę wytwarzanych cząsteczek polipeptydowych. Efektem działania tych czynników jest wzrost aktywności immunologicznej alergenów roślinnych, w tym głównego białka alergennego pyłku brzozy, Bet v1. Zmienność składu białkowego może wpływać na odmienną indywidualną odpowiedź alergiczną u osób z alergią pyłkową na brzozę, prowadząc do zróżnicowania objawów klinicznych zależnie od charakteru źródła pyłku.

Głównym celem projektu jest określenie, czy i w jakim stopniu obserwowane zmiany ilościowe i jakościowe białek pyłku *B. pendula* są powiązane ze zmianą ich właściwości immunoreaktywnych i alergizujących.

Badania zostaną przeprowadzone z wykorzystaniem materiału roślinnego zebranego ze stanowisk na terenie Krakowa oraz na obszarach o niskim stężeniu pyłu zawieszonego. Termin zbioru zostanie sprecyzowany na podstawie obserwacji fenologicznych kwiatostanów okazów *Betula pendula*, w celu wybrania właściwego czasu, tuż przed pełnym otwarciem się kwiatów i uwolnieniem ziaren pyłku. Równoległe będzie prowadzony pomiar stężenia pyłku *Betula* spp. w powietrzu metodą wolumetryczną w Krakowie w celu monitorowania stężenia pyłku w sezonie i porównania z poziomem zanieczyszczenia powietrza. Do badania zostanie włączona grupa 100 osób z potwierdzoną na podstawie testów skórnych punktowych alergią na brzozę oraz grupa kontrolna (20 osób) nie uczulonych na pyłek brzozy.

Badania laboratoryjne będą obejmować:

- Ocenę stężenia białka w materiale pyłkowych z użyciem metody kolorymetrycznej
- Badanie profilu białkowego pyłku *B. pendula* w celu charakterystyki składu frakcji i podjednostek białek alergizujących, z wykorzystaniem metod rozdziału elektroforetycznego SDS-PAGE
- Ocenę reaktywności surowicy pacjentów uczulonych na pyłek brzozy *in vitro* metodą immunoblottingu celem identyfikacji najbardziej immunoreaktywnych podjednostek
- Molekularną diagnostykę komponent alergenowych u pacjentów objętych badaniem, w celu sprawdzenia, czy siła wiązania przeciwciał IgE przy zastosowaniu komercyjnych zestawów diagnostycznych jest zbliżona do reakcji *in vitro* z białkami z naturalnego pyłku brzozy. Będą oceniane cztery komponenty pyłku brzozy: Bet v1, Bet v2, Bet v4, Bet v6.
- Ocenę aktywności bazofilów krwi obwodowej po stymulacji komercyjnym i naturalnym ekstraktem pyłku brzozy stosując Test Aktywacji Bazofilów (BAT)

Nowatorską cechą proponowanego projektu będzie przeprowadzenie wielowątkowej analizy związku przyczynowo-skutkowego od źródła alergennego pyłku do objawów klinicznych pacjenta. Proces ten będzie obejmował badanie wpływu białek alergennych pochodzących z naturalnego materiału pyłkowego na odpowiedź immunologiczną *in vitro* z udziałem przeciwciał IgE z surowicy osób uczulonych, z uwzględnieniem profilu białkowego alergenów brzozy oraz precyzyjnej diagnostyki komponent molekularnych u pacjenta.

Podjęcie interdyscyplinarnych badań umożliwi poszerzenie wiedzy w dziedzinach aerobiologii, biochemii i fizjologii roślin oraz immunologii. Planowane badania znacząco poszerzą tematykę badawczą Polskiej oraz Europejskiej Sieci Aeroalergenów (EAN) w ramach koncepcji „molecular aerobiology” oraz wniosą istotny wkład do wiedzy alergologicznej. Zagadnienia zawarte w projekcie stanowią kontynuację badań nad wpływem zanieczyszczenia powietrza na stan fizjologiczny, profil białkowy oraz zawartość głównego białka alergennego w pyłku brzozy w Krakowie, w latach 2017-2019.