

# **Nikotynizm a ekspresja i immunoekspresja pentraksyny 3 u chorych na przewlekłą obturacyjną chorobę płuc**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

**Lek. Michał Poznański**

Klinika Pulmonologii Ogólnej i Onkologicznej

I Katedra Chorób Wewnętrznych

Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Promotor

**Prof. dr hab. n. med. Adam Antczak**

Łódź 2016

## STRESZCZENIE

**Wprowadzenie:** Przewlekła obturacyjna choroba płuc (*POChP*) dotyka około 10% populacji światowej. Można ją leczyć oraz zapobiegać jej powstawaniu. Charakteryzuje się utrwalonym ograniczeniem przepływu powietrza przez drogi oddechowe, który ma na ogół charakter postępujący. Rozwój *POChP* związany jest z przewlekłym procesem zapalnym toczącym się głównie w drobnych drogach oddechowych w odpowiedzi na wnikające do ich światła szkodliwe pyły i gazy. Najważniejszym czynnikiem ryzyka rozwoju *POChP* jest nikotynizm, który odpowiada za około 80% przypadków choroby.

Pentraksyna 3 jest pentamerycznym białkiem, należącym do rodziny długich pentraksyn, w nadrodzinie pentraksyn. Jest ona kodowana przez gen o tej samej nazwie, zlokalizowany na chromosomie 3. Do tej samej nadrodziny należy CRP, które od pentraksyny 3 odróżnia nie tylko budowa, ale i miejsce syntezy – pentraksyna 3 jest syntetyzowana między innymi przez makrofagi, komórki mięśni gładkich naczyń krwionośnych, komórki śródbłonna, fibroblasty i adipocyty, w miejscu, w którym toczy się proces zapalny.

Istnieją nieliczne dane wskazujące na związek ekspozycji na dym tytoniowy i pentraksyny 3. Posługując się modelem zwierzęcym wykazano, że dym tytoniowy w mechanizmie IL-1 zależnym zwiększa stężenie pentraksyny 3 mierzone w żyłach płucnych. Prace wykonywane na materiale pobranym od człowieka wykazały, że stężenie pentraksyny 3 mierzone w płwocinie chorych na *POChP* wzrasta podczas infekcji rinowirusowych, ale tylko w grupie aktywnych palaczy.

**Cel:** Celem niniejszej pracy było zweryfikowanie hipotezy zakładającej, że stężenie pentraksyny 3 i względna ekspresja genu pentraksyny 3 u chorych na *POChP* różni się od grupy kontrolnej i koreluje z historią palenia, mierzoną paczkolatami.

**Materiały i metody:** Do badania włączono 17 osób z rozpoznaną *POChP* i 17 osób zdrowych. Byli oni obecnymi lub byłymi palaczami tytoniu, z wywiadem co najmniej 10 paczkolat. Grupy te były dopasowane pod względem wieku. Stężenie pentraksyny 3 w osoczu oznaczano przy pomocy metody immunoenzymatycznej ELISA. Względna ekspresja genu pentraksyny 3 była oznaczana przy użyciu metody real-time PCR.

**Wyniki:** Średnie stężenie pentraksyny 3 było istotnie wyższe w grupie badanej, w porównaniu do grupy kontrolnej (29.22 [5.47] vs. 14.64 [3.64] ng/ml;  $p < 0.001$ ). Względna ekspresja genu pentraksyny 3 była istotnie większa w grupie badanej niż w grupie kontrolnej (0.15 [1.33] vs.

-  $2.80 [1.99] \log_n RQ; p < 0.001$ ). Średnie stężenie pentraksyny 3 było większe w podgrupie osób palących, zarówno wśród chorych na POChP ( $31.87 [4.16]$  vs.  $24.37 [4.19]$  ng/ml;  $p < 0.01$ ) jaki i w grupie kontrolnej ( $17.13 [2.75]$  vs.  $11.83 [2.14]$  ng/ml;  $p < 0.05$ ). Stężenie pentraksyny 3 koreluje dodatnio i wysoko ( $r = 0.57; p < 0.001$ ) z wywiadem nikotynizmu, mierzonym liczbą paczkołat. Stężenie pentraksyny 3 koreluje dodatnio i wysoko ( $r = 0.50; p < 0.01$ ) ze względną ekspresją genu pentraksyny 3 wyrażoną współczynnikiem RQ po transformacji logarytmicznej. Współczynnik RQ koreluje dodatnio ( $\rho = 0.36; p < 0.05$ ) z wywiadem nikotynizmu, mierzonym liczbą paczkołat.

**Wnioski:** Osoczowe stężenie pentraksyny 3 jest wypadkową prozapalnej roli dymu tytoniowego i przewlekłego zapalenia toczącego się w POChP. Obecność przewlekłego procesu zapalnego w POChP prowadzi do zwiększenia względnej ekspresji genu pentraksyny 3, czemu towarzyszy zwiększenie stężeń osoczowych jego produktu białkowego. Jest to wytłumaczalne opisywanym w piśmiennictwie potencjalnym wpływem przeciwzapalnym pentraksyny 3, wywieranym w trakcie trwania procesu zapalnego.

Ekspozycja na dym tytoniowy dodatkowo nasila toczący się przewlekły proces zapalny, wzmagając jednocześnie odpowiedź przeciwzapalną. Dowodzą tego obserwowane wyższe stężenia pentraksyny 3 wśród palaczy oraz ich dodatnia korelacja z wywiadem palenia (*liczbą paczkołat*). Zaprzestanie palenia tytoniu prowadzi do redukcji zapalenia, mierzonego stężeniem pentraksyny 3. Przeciwzapalny wpływ pentraksyny 3 nie jest wystarczający do zatrzymania rozwoju POChP.

## SUMMARY

**Introduction:** Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) affects about 10% of global population. This disease is treatable and preventable. It is characterised by persistent airflow limitation in the airways that is usually progressive. Development of COPD is related to chronic inflammation that acts mainly in small airways in response to noxious particles and gases. The most important risk factor of COPD is cigarette smoke that is cause of 80% of cases.

Pentraxin 3 is pentameric protein that belongs to long pentraxins family in pentraxins superfamily. It is encoded by gene with the same name localised on chromosome 3. CRP is a member of same superfamily but it differs from pentraxin 3 not only in structure but also in place of synthesis – pentraxin 3 is synthesised inter alia by vascular smooth muscle cells, endothelium, fibroblasts, adipocytes and on-site of inflammation.

There are only few data available that points correlation between cigarette smoke and pentraxin 3. Usage of animal model showed that cigarette smoke in IL-1 dependent manner increases pentraxin 3 concentration measured in pulmonary veins. Data obtained from human material showed that pentraxin 3 concentrations measured in sputum of COPD patients increases during rhinovirus infections, but only in current smokers group.

**Aim:** The aim of this study was to verify the hypothesis assuming that pentraxin 3 concentrations and relative expression of its gene differs between COPD and control group and correlates with history of smoking measured by pack-years.

**Materials and methods:** 17 COPD patients and 17 healthy controls were enrolled in the study. They were current or ex-smokers with at least 10 pack-years in anamnesis. This groups were age matched. Pentraxin 3 concentrations were measured by ELISA method. Relative expression of pentraxin 3 gene were measured by real-time PCR method.

**Results:** Mean pentraxin 3 concentration were statistically significantly higher in COPD group than in control group ( $29.22 [5.47]$  vs.  $14.64 [3.64]$  ng/ml;  $p < 0.001$ ). Relative expression of pentraxin 3 gene were statistically significantly higher in COPD group than in control group ( $0.15 [1.33]$  vs.  $-2.80 [1.99]$   $\log_2 RQ$ ;  $p < 0.001$ ). Mean pentraxin 3 concentration were higher in subgroups of current smokers both in COPD ( $31.87 [4.16]$  vs.  $24.37 [4.19]$  ng/ml;  $p < 0.01$ ) and control group ( $17.13 [2.75]$  vs.  $11.83 [2.14]$  ng/ml;  $p < 0.05$ ). Pentraxin 3 concentration correlates positively and high ( $r = 0.57$ ;  $p < 0.001$ ) with smoking history measured by pack-years. Pentraxin 3 concentration correlates positively and high ( $r = 0.50$ ;  $p < 0.01$ ) with relative

expression of pentraxin 3 gene presented as RQ value after logarithmic transformation. RQ value correlates positively ( $\rho=0.36$ ;  $p<0.05$ ) with smoking history measured by pack-years.

**Conclusions:** Serum concentrations of pentraxin 3 are resultant of pro-inflammatory role of cigarette smoke and ongoing inflammation in COPD. Presence of inflammation in COPD leads to an increase of relative expression of pentraxin 3 gene, which is accompanied by an increase of serum concentrations of its protein product. It is explainable by potential anti-inflammatory role of pentraxin 3 that influence the inflammation.

Exposition to cigarette smoke additionally enhances ongoing inflammation and enhances also anti-inflammatory response. This is proven by higher pentraxin 3 concentrations in current smokers group and their positive correlation with smoking history measured by pack-years.

Smoking cessation leads to reduction of inflammation measured by pentraxin 3 concentration. Anti-inflammatory influence of pentraxin 3 is insufficient to stop development of COPD.