

Gdańsk, 19 czerwca 2023r.

dr n. med. Krzysztof Specjalski
Klinika Alergologii
Katedra Pneumonologii i Alergologii
Wydział Lekarski
Gdański Uniwersytet Medyczny
e-mail: specjalski@gumed.edu.pl

Autoreferat

Spis treści

1. Imię i nazwisko.....	3
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku uzyskania oraz tytuł rozprawy doktorskiej.....	3
3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu	3
4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2021r. poz. 478 z późn. zm.)	
4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego.....	3
4.2. Wykaz publikacji stanowiących cykl habilitacyjny.....	4
4.3. Omówienie celu naukowego w ww. pracy i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.....	5
5. Opis pozostałego dorobku i osiągnięć naukowych	
5.1. Pozostały dorobek naukowy.....	23
5.1.1. Badania w zakresie biomarkerów astmy.....	23
5.1.2. Badania w zakresie nadwrażliwości na leki.....	24
5.2. Realizacja projektów finansowanych zewnętrznie.....	25
5.3. Aktywny udział w konferencjach naukowych.....	25
5.4. Opracowanie recenzji artykułów naukowych dla czasopism medycznych.....	26

6. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni, w szczególności zagranicznej	
6.1. Współpraca z innymi jednostkami uczelni.....	27
6.2. Udział w badaniach wielośrodkowych i projektach międzynarodowych.....	29
7. Osiągnięcia dydaktyczne, organizacyjne oraz promujące naukę	
7.1. Zajęcia dydaktyczne na uczelni.....	30
7.2. Kształcenie podyplomowe.....	30
7.3. Opieka nad doktorantami.....	31
7.4. Osiągnięcia organizacyjne.....	31
7.5. Popularyzacja nauki.....	31
8. Członkostwo w międzynarodowych i krajowych organizacjach oraz towarzystwach naukowych.....	32
9. Nagrody za działalność naukową.....	32
10. Analiza bibliometryczna.....	32
11. Piśmiennictwo.....	33

1. Imię i nazwisko

Krzysztof Specjalski

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe z podaniem nazwy, miejsca i roku uzyskania oraz tytuł rozprawy doktorskiej

2004r. dyplom lekarza (Akademia Medyczna w Gdańsku)

2010r. stopień doktora nauk medycznych (Gdański Uniwersytet Medyczny, Wydział Lekarski) na podstawie rozprawy pt. „*Rola zakażeń Chlamydia pneumoniae i Mycoplasma pneumoniae w przebiegu astmy u chorych mieszkających na terenie województwa pomorskiego*”

2011r. tytuł specjalisty w zakresie chorób wewnętrznych

2015r. tytuł specjalisty w zakresie alergologii

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu

2004r. - 2005r. staż podyplomowy w Akademickim Centrum Klinicznym – Szpitalu AMG w Gdańsku

2005r. - 2009r. Dzielne Studia Doktoranckie, Gdański Uniwersytet Medyczny

2005r. – dziś Klinika Pneumonologii i Alergologii; Uniwersyteckie Centrum Kliniczne w Gdańsku

2012r. – dziś Klinika Alergologii Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego; stanowisko: adiunkt

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2021r. poz. 478 z późn. zm.)

4.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

Ekspresja mikroRNA w czasie immunoterapii swoistej prowadzonej w chorobach alergicznych

Osiągnięcie naukowe stanowi zbiór czterech powiązanych tematycznie publikacji zawierający artykuły opublikowane w recenzowanych czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR) o łącznej punktacji IF: 12,471, MEiN: 335.

4.2. Wykaz publikacji stanowiących cykl habilitacyjny

1. Krzysztof Specjalski, Ewa Jassem: MicroRNAs: Potential biomarkers and targets of therapy in allergic diseases? *Arch Immunol Ther Exp* 2019; 67: 213-223.

Impact Factor: 3,20 pkt.

Punktacja MEiN: 140,00

PPP

Mój wkład w powstanie pracy obejmował: opracowanie koncepcji pracy, zabranie i analizę piśmiennictwa, przygotowanie manuskryptu.

2. Krzysztof Specjalski, Agnieszka Maciejewska, Ryszard Pawłowski, Marta Chełmińska, Ewa Jassem: Changes in the expression of microRNA in the buildup phase of wasp venom immunotherapy: a pilot study. *Int Arch Allergy Immunol* 2016; 170: 97-100.

Impact Factor: 2,72 pkt.

Punktacja MEiN: 25,00

ORG

Mój wkład w powstanie pracy obejmował: opracowanie koncepcji badania, rekrutację uczestników, zbieranie danych klinicznych, przeprowadzenie większości oznaczeń laboratoryjnych, przygotowanie manuskryptu.

3. Krzysztof Specjalski, Agnieszka Maciejewska, Ryszard Pawłowski, Maciej Zieliński, Piotr Trzonkowski, Michał Pikuła, Ewa Jassem: Changing microRNA expression during three-month wasp venom immunotherapy. *Immunol Invest* 2019; 48: 835-843.

Impact Factor: 2,511 pkt.

Punktacja MEiN: 70,00

ORG

Mój wkład w powstanie pracy obejmował: opracowanie koncepcji badania, rekrutację uczestników, zbieranie danych klinicznych, przeprowadzenie większości oznaczeń laboratoryjnych, przygotowanie manuskryptu. W tej pracy byłem kierownikiem projektu finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki (2017/01/X/NZ5/01044).

4. Krzysztof Specjalski, Agnieszka Maciejewska, Jan Romantowski, Ryszard Pawłowski, Ewa Jassem, Marek Niedożytko: miRNA profiles change during pollen immunotherapy irrespective of clinical outcome. *Immunotherapy* 2022; 14: 433-444.

Impact Factor: 4,04 pkt.

Punktacja MEiN: 100,00

ORG

Mój wkład w powstanie pracy obejmował: opracowanie koncepcji badania, rekrutację uczestników, zbieranie danych klinicznych, przeprowadzenie większości oznaczeń laboratoryjnych, przygotowanie manuskryptu.

Oświadczenia współautorów określające indywidualny wkład każdego z nich w powstanie publikacji zawarto w załączniku nr 3.

4.3 Omówienie celu naukowego ww. pracy i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

WPROWADZENIE

W ostatnich dziesięcioleciach obserwuje się istotny wzrost częstości chorób alergicznych [1]. W Polsce występowanie alergii deklaruje niemal 40% uczestników badań ankietowych [2]. Wyniki programów epidemiologicznych obejmujących weryfikację rozpoznania przez lekarza wskazują natomiast, że 20-30% populacji naszego kraju cierpi na choroby alergiczne [2]. Należą one zatem do najczęstszych chorób przewlekłych. Prowadzą do pogorszenia jakości życia milionów osób, znacznych kosztów i obciążenia systemu ochrony zdrowia.

Patomechanizm chorób alergicznych jest zróżnicowany, jednak najczęstsze są choroby z istotnym komponentem reakcji IgE-zależnych: alergiczny nieżyt nosa (ANN), astma oraz atopowe zapalenie skóry (AZS) [3]. Charakteryzują się one głównie przewlekłym zapaleniem eozynofilowym i zaburzeniem polaryzacji Th1/Th2. Cytokinami Th2 o kluczowym znaczeniu w rozwoju i przebiegu chorób atopowych są: IL-4 promująca limfocyty Th2 oraz aktywująca syntezę IgE, IL-5 pobudzająca proliferację i dojrzewanie eozynofiliów oraz wydłużająca ich czas przeżycia, IL-13 indukująca i podtrzymująca syntezę IgE. Działanie prozapalne w ANN wykazują również IL-1, IL-6, TNF- α (ang. *tumor necrosis factor α*), natomiast transformujący czynnik wzrostu (TGF- β , ang. *transforming growing factor β*) oraz IL-10 wykazują właściwości przeciwzapalne [4, 5].

Pomimo znaczących postępów w terapii chorób alergicznych szacuje się, że nadal ponad 50% chorych na astmę oraz 20-40% chorych na ANN ma niekontrolowane objawy [6-10]. Co więcej, nawet pomimo prawidłowego włączenia skutecznej farmakoterapii choroba alergiczna może mieć charakter postępujący. Z czasem pojawiają się kolejne uczulenia, reakcje krzyżowe wynikające z podobieństwa alergenów oraz nowe manifestacje kliniczne (np. objawy astmy u osób dotychczas cierpiących tylko na ANN) [11-13].

Odmiernym problemem klinicznym są reakcje anafilaktyczne definiowane jako ciężkie, uogólnione reakcje nadwrażliwości [14]. Najczęstszymi alergenami wywołującymi anafilaksję są: pokarmy, leki oraz jady owadów błonkoskrzydłych [15]. Szacuje się, że alergia na jady owadów manifestująca się objawami ogólnymi dotyczy 1-3% populacji [16].

Zważywszy na znaczny odsetek chorych z objawami astmy lub ANN niekontrolowanymi farmakoterapią oraz ciężki, potencjalnie zagrażający życiu przebieg reakcji anafilaktycznych, swoista immunoterapia (SIT), jako leczenie przyczynowe, modyfikujące procesy immunologiczne leżące u podłoża choroby alergicznej, bywa cennym uzupełnieniem standardowego leczenia.

Immunoterapia polega na kontrolowanym podawaniu wystandaryzowanego preparatu alergenowego w celu przywrócenia tolerancji immunologicznej [17]. U chorych na alergiczny nieżyt nosa i/lub astmę alergiczną immunoterapia jest prowadzona alergenami powietrzno pochodnymi istotnymi dla danego chorego: pyłkami roślin, roztocami kurzu domowego, alergenami pleśni lub zwierząt [18]. Wykazano, że SIT prowadzi do istotnej redukcji objawów ANN i astmy oraz redukcji leczenia objawowego po 2-3 latach terapii. Poprawę kliniczną stwierdzono niezależnie od wieku chorych, typu stosowanej szczepionki (niemodyfikowana, alergoid), schematu dawkowania (całorocznie, przedsezonowo) czy drogi podaży (iniekcyjna, podjęzykowa) [19]. Dodatkową korzyścią, jaką odnoszą pacjenci poddawani SIT, jest redukcja ryzyka niekorzystnego przebiegu choroby w przyszłości, szczególnie w odniesieniu do rozwoju nowych uczuleń oraz rozwoju astmy u osób chorujących dotychczas wyłącznie na ANN [20-22].

Immunoterapia swoista jadami owadów (ang. *venom immunotherapy*, VIT) zalecana jest dla chorych z alergią potwierdzoną testami skórnymi i/lub obecnością swoistych IgE, którzy przebyli reakcję anafilaktyczną III lub IV stopnia wg Muellera po żądleniu [23]. Pacjenci z wywiadem wskazującym na reakcję I lub II stopnia mogą być leczeni jeśli: mają wysokie ryzyko żądleń w przyszłości ze względu na pracę zawodową lub hobby (pszczelarze, sprzedawcy, sadownicy); istnieje duże ryzyko ciężkiej reakcji (mastocytoza); alergia istotnie nasila lęk [24, 25]. W przypadkach alergii na jady owadów immunoterapię prowadzi się w celu zmniejszenia ryzyka potencjalnie zagrażających życiu reakcji anafilaktycznych. VIT jest postępowaniem efektywnym, zapewniającym skuteczną ochronę przed rozwojem reakcji anafilaktycznej u ponad 80% chorych odczulanych jadem pszczoły i ponad 90% chorych odczulanych jadem osy [26, 27].

W przeszłości skuteczność immunoterapii wiązano głównie z wytwarzaniem przeciwciał blokujących klasy IgG₄, a także redukcją liczby komórek tucznych i eozynofików. Wspomnianymi zjawiskami tłumaczono zmniejszenie wydzielania mediatorów stanu zapalnego i, w konsekwencji, redukcję objawów klinicznych [28, 29]. Obecnie uważa się, że immunoterapia moduluje w złożony sposób zarówno odpowiedź humoralną jak i komórkową,

a najważniejszym zjawiskiem decydującym o dobrej odpowiedzi klinicznej jest rekrutacja i pobudzenie swoistych alergenowo limfocytów T regulatorowych (FOXP3⁺CD4⁺CD25⁺) w wyniku podawania wysokich dawek alergenu [30]. Uznanie zmiany funkcji limfocytów T za główny mechanizm indukcji tolerancji wyjaśnia swoistość odpowiedzi immunologicznej w toku leczenia. W czasie SIT wykazano zwiększenie liczby komórek T_{reg} wytwarzających IL-10 oraz TGF-β. Cytokiny te wykazują wielopunktowy wpływ na rozwój tolerancji immunologicznej. Hamują proliferację limfocytów B, zmniejszają syntezę IgE, a zwiększają IgA i IgG₄ [31, 32]. IL-10 odgrywa istotną rolę w rozwoju anergii limfocytów T, a przez to prowadzi do desensytyzacji komórek efektorowych reakcji alergicznych (komórek tucznych, bazofilów, eozynofilów) [33]. Efekty działania IL-10 opisywano już w pierwszych tygodniach immunoterapii, a jej maksymalne stężenia stwierdzano po czterech tygodniach leczenia [34].

TGF-β wykazuje aktywność tolerogenną w wyniku hamowania aktywności limfocytów T za pośrednictwem CTLA-4. Zmniejsza również ekspresję receptora dla IgE (FCεRI) na powierzchni komórek Langerhansa [35].

Supresji odpowiedzi typu Th2 towarzyszy indukcja komórek Th1. U chorych poddanych skutecznej immunoterapii wykazano wzrost liczby limfocytów T produkujących IFN-γ po donosowej próbie prowokacyjnej alergenem [36]. Obserwowano także zwiększenie liczby makrofagów produkujących IL-12. Ich liczba korelowała pozytywnie z liczbą komórek T produkujących IFN-γ, a odwrotnie – z liczbą limfocytów T produkujących IL-4 [37].

MikroRNA (miRNAs) są krótkimi, niekodującymi cząstkami RNA o długości 18-22 nukleotydów. Ich budowa jest konserwatywna ewolucyjnie, zatem identyczne cząstki są opisywane u wielu gatunków o odległym pokrewieństwie [38]. Rola mikroRNA pozostawała niejasna do lat 90-tych XX wieku. Opisano wówczas blokujący wpływ cząsteczki lin-4 na ekspresję genów nicienia *Caenorhabditis elegans* w wyniku oddziaływania RNA na RNA [39]. Obecnie mikroRNA są uznawane za jeden z fundamentalnych mechanizmów epigenetycznych regulujących ekspresję genów. Mechanizm działania mikroRNA jest dwojaki. Po pierwsze, mikroRNA prowadzi do deadenylacji mRNA, a następnie jego degradacji przez egzorybonukleazę. Po drugie, zwłaszcza w przypadku nieidealnego dopasowania mikroRNA do mRNA, może dochodzić do blokowania translacji [40].

MikroRNA są zaangażowane w regulację wielu procesów biologicznych, m.in. proliferacji i różnicowania komórek, transdukcji sygnału, apoptozy, odpowiedzi komórkowej na stres. Ich udokumentowany wpływ na cykl komórkowy był przyczyną wielu badań w zakresie onkologii [41]. Wykazano również wpływ mikroRNA na rozwój i rezolucję stanu zapalnego poprzez

wielopunktowy wpływ na funkcję układu immunologicznego [42]. Badania prowadzone w ostatnich latach wykazały, że osoby cierpiące na choroby atopowe charakteryzują się odmienną ekspresją mikroRNA w porównaniu z populacją ogólną (tabela 1).

Choroba alergiczna	Cząstki mikroRNA o zwiększonej ekspresji
ASTMA	miR-16, miR-223, miR-148a, miR-146a, miR-133b, miR-126, miR-21
ALERGICZNY NIEŻYT NOSA	miR-181a, miR-126-5p, miR-19a-5p, miR-26a-5p, miR-221, miR-142-3p, miR-187
ATOPOWE ZAPALENIE SKÓRY	miR-720, miR-21, miR-146a, miR-203, miR-146b, miR-483-5p

Tabela 1. MikroRNA o zwiększonej ekspresji w chorobach alergicznych [43-47].

Uważa się, że profil mikroRNA wpływa zarówno na rozwój jak i na przebieg chorób alergicznych m.in. zaburzając równowagę Th1/Th2, promując proces zapalny i remodelling, aktywując komórki układu immunologicznego (eozynofile, neutrofile, komórki tuczne) - tabela nr 2.

Regulowany proces	mikroRNA regulujące proces	
Synteza IL-4	(+) miR-155, miR-221-3p	(-) miR-27, miR-128
Synteza IL-5	(+) miR-1248, miR-155	(-) miR- 133b, miR-146 ^a
Synteza IL-13	(+) miR-155	(-) let-7, miR-143
Różnicowanie limfocytów T w kierunku Th2	(+) miR-21, miR-19a	
Aktywność limfocytów Treg	(-) miR-210	
Synteza cytokin Th1 (IL-12, INF γ)	(+) miR-301, miR-9	(-) miR-513-5p, miR-22-3p, miR-625-5p
Synteza IL-10	(+) miR-181a, miR-27a	(-) miR-106, let-7
Synteza i aktywność TGF β	(+) miR-181a, miR-224	(-) miR-376c, miR-370, miR-30b, miR-323-3p

Tabela 2. Wpływ wybranych mikroRNA na regulację zapalenia typu Th2 [48 - 63].

Ekspresja mikroRNA reguluje syntezę cytokin Th1 i Th2. W biopsjach błony śluzowej nosa chorych na alergiczny nieżyt nosa stwierdza się między innymi zwiększenie ekspresji miR-7, miR-21, miR-1194, miR-498, miR-155, miR-205 oraz miR-498. Cząstki te regulują funkcję limfocytów T. Ich ekspresja koreluje pozytywnie ze stężeniami cytokin Th2, a negatywnie - cytokin Th1. Jednocześnie zmniejszona jest ekspresja m.in. miR-224, miR-187, miR-874, miR-143, miR-886, miR-767, let-7e, co m.in. prowadzi do supresji tolerogennego TGF- β [64, 65]. W astmie ekspresja miR-155, miR-21 oraz miR-18a koreluje ze stężeniem cytokin Th2 w popłuczynach oskrzelikowo-pęcherzykowych [66, 67].

Określony został również profil mikroRNA przyczyniający się do remodelingu oskrzeli poprzez zwiększenie proliferacji i hipertrofię komórek mięśni gładkich (miR-145, miR-142-3p, miR-10, miR-708), zwiększenie ich kurczliwości (miR-133, miR-140-3p) i syntezy cytokin prozapalnych (miR-25) [68-73].

Wykazano, że ekspresja niektórych prozapalnych mikroRNA koreluje z objawami klinicznymi lub z uznanymi markerami stanu zapalnego. Na przykład, nadekspresja miR-296-5p, miR-16-5p, miR-203 oraz miR-30d-5p koreluje z obecnością nadreaktywności oskrzeli, natomiast miR-155 – z poziomem całkowitego IgE we krwi oraz ze stężeniem tlenku azotu w wydychanym powietrzu (FeNO) [74, 75].

Reasumując, w ostatnich latach wykazano odmienną ekspresję mikroRNA w chorobach alergicznych. Dobrze udokumentowany jest również wpływ wielu cząstek na regulację zapalenia typu Th2, w szczególności na sekrecję cytokin, aktywność limfocytów T, eozynofiliów oraz regulację remodelingu. Mniej poznana jest za to rola mikroRNA w procesie przywracania tolerancji immunologicznej, która jest celem immunoterapii swoistej. Istotna rola w SIT mechanizmów humoralnych i komórkowych regulowanych przez mikroRNA (synteza IL-10, TGF- β , aktywność i polaryzacja limfocytów T itd.) pozwala domniemywać, że mikroRNA wpływa na rozwój tolerancji.

Badania dotyczące roli mikroRNA w mechanizmie chorób alergicznych i regulacji tolerancji immunologicznej mogą mieć w przyszłości praktyczne zastosowanie w diagnostyce, monitorowaniu oraz terapii chorób alergicznych.

MikroRNA są potencjalnymi biomarkerami ułatwiającymi rozpoznanie, określenie fenotypu i ciężkości przebiegu choroby. W diagnostyce ANN zastosowanie takie może mieć miR-181a. Jego stężenie w surowicy krwi jest istotnie obniżone u chorych na ANN negatywnie korelując

z ciężkością objawów, poziomem osteopontyny i cytokin Th2 (IL-4, IL-5) oraz korelując pozytywnie ze stężeniem cytokin Th1 (IL-12, IFN γ) [76]. Jednoczesna ocena grupy mikroRNA (miR-126-5p, miR-19a-5p i miR-26a-5p) umożliwia potwierdzenie diagnozy ANN z czułością 90% i specyficznością 70%; ich ekspresja koreluje z ciężkością choroby [77]. W innym badaniu stwierdzono, że oznaczanie miR-221 i miR-142-3p umożliwia rozpoznanie ANN z czułością 81% i specyficznością 65% [78]. Ekspresja miR-221 koreluje z ciężkością objawów klinicznych.

W odniesieniu do astmy określenie biomarkerów pozostaje dotychczas dużym wyzwaniem, ponieważ choroba ma charakter heterogenny. Chorzy różnią się typem zapalenia, obrazem klinicznym, rodzajem czynników wpływających na przebieg choroby. Potencjalny biomarker mógłby mieć wiele zastosowań: potwierdzenie rozpoznania astmy, określenie jej fenotypu i endotypu, monitorowanie ciężkości choroby i skuteczności leczenia. W dostępnym obecnie piśmiennictwie nie ma dowodu na skuteczność oznaczania pojedynczej cząstki mikroRNA w rozpoznawaniu astmy. Wykazano jednak, że kombinacja względnej ekspresji pięciu cząstek (miR-21-5p/miR-15a-5p; miR-27a-3p/miR-15a-5p; miR-29c-3p/miR-15a-5p; miR-223-3p/miR-425-5p; miR-15a-5p/miR-342-3p) charakteryzowała się wysoką czułością i swoistością [79]. Model ten nie zapewniał jednak możliwości określania fenotypu zapalnego choroby.

W innym badaniu porównano ekspresję mikroRNA wśród chorych na astmę, ANN oraz osób zdrowych. Wyodrębniono 30 cząstek o odmiennym poziomie ekspresji w poszczególnych grupach. Dla astmy specyficzna była nadekspresja miR-16, miR-223, miR-148a i miR-146a oraz zmniejszona ekspresja miR-299-5p, miR-570, miR-150. Model oparty na jednoczesnym oznaczeniu 6 mikroRNA (miR-125b, miR-16, miR-299-5p, miR-126, miR-206, miR-133b) umożliwił różnicowanie osób zdrowych, chorych na ANN oraz chorych na astmę z czułością 92,4%. Wyodrębniono również dwa profile ekspresji mikroRNA korespondujące z eozynofilią obwodową [44].

Jednym z ważniejszych wyzwań jest określenie biomarkerów umożliwiających przewidzenie odpowiedzi na leczenie oraz rokowania. Geachie i wsp. określili ekspresję w surowicy krwi 738 mikroRNA u 160 dzieci z astmą w wieku od 5 do 12 lat w poszukiwaniu predyktorów remisji choroby do 14. roku życia. Model oparty na 12 zmiennych, w tym miR-146b-5p, miR-106a, miR-126 i miR-30a umożliwił predykcję remisji z czułością 84% i specyficznością 70% [80].

Regulacyjny wpływ mikroRNA na wiele procesów kluczowych dla funkcjonowania układu immunologicznego skłonił badaczy do podjęcia eksperymentów dotyczących ich wykorzystania terapeutycznego. Aktualnie dostępne dane pochodzą wyłącznie z badań *in vitro* oraz na zwierzętach. Stosowano w nich mikroRNA regulujące aktywność eozynofiliów lub komórek tucznych, różnicowanie limfocytów T oraz syntezę cytokin Th2.

W badaniach *in vitro* potwierdzono m.in. blokowanie proalergicznego działania komórek dendrytycznych przez miR-106b, supresję syntezy receptora IL-13 (IL-13R α 1) przez miR-143, blokadę SOCS3 (ang. *suppressor of cytokine signalling 3*) zaangażowaną w różnicowanie limfocytów Th i rozwój chorób atopowych przez miR-30a-5p [81-84]. Podanie agomiru miR-375 prowadzi do blokady szlaku JAK2/STAT3 ze zmniejszeniem syntezy IL-6 i TNF α oraz zwiększeniem sekrecji IL-10 w komórkach błony śluzowej nosa [85].

W modelach zwierzęcych efekty podawania mikroRNA były badane głównie w ANN. Zastosowanie miR-135a prowadzi do supresji nacieków eozynofilowych i zmniejszenie liczby komórek tucznych w błonie śluzowej nosa [86]. Podanie agomiru miR-133b redukuje objawy nieżyty nosa oraz obniża poziom IgE, IL-4, IL-5 oraz TNF- α we krwi. W błonie śluzowej nosa ustępują nacieki eozynofilowe oraz zmniejsza się liczba komórek tucznych [87].

W mysim modelu astmy wykazano, że zastosowanie miR-33b, o udokumentowanym wcześniej regulacyjnym wpływie na aktywność komórek tucznych, prowadzi do zmniejszenia nacieków eozynofilowych w oskrzelach, redukcji stężeń cytokin Th2 w popłuczynach oskrzelikowo-pęcherzykowych, nadreaktywności oskrzeli oraz stężenia sIgE w surowicy [88].

Inną potencjalną opcją terapeutyczną jest stosowanie antagomirów. Są to oligonukleotydy syntetyzowane metodami inżynierii genetycznej, komplementarne do swoistych mikroRNA. Po przyłączeniu do mikroRNA, blokują ich działanie, a tym samym zapobiegają degradacji mRNA. W modelu mysim anti-miR-221 redukuje eozynofilię w popłuczynach oskrzelikowo-pęcherzykowych [89]. Anti-miR-145 oraz anti-miR-126 zmniejszają nacieki eozynofilowe w błonie śluzowej oskrzeli, sekrecję cytokin Th2 oraz nadreaktywność oskrzeli [90, 91].

CELE DZIAŁA

CEL ZASADNICZY:

Określenie ekspresji wybranych mikroRNA u chorych poddawanych immunoterapii alergenowej.

CELE SZCZEGÓŁOWE:

1. Wytypowanie cząstek mikroRNA podlegających ekspresji w grupie chorych z alergią na jad osy i mogących odgrywać istotną rolę w patomechanizmie chorób alergicznych lub rozwoju tolerancji immunologicznej (realizacja w pracach nr 1 i 2).
2. Porównanie ekspresji mikroRNA u chorych na alergię na jad osy i osób zdrowych (realizacja w pracy nr 3).
3. Ocena zmian ekspresji wybranych mikroRNA u chorych z alergią na jad osy poddawanych immunoterapii swoistej (realizacja w pracach nr 2 i 3).
4. Porównanie ekspresji mikroRNA u chorych na alergiczny nieżyt nosa z alergią na pyłek traw i osób zdrowych (realizacja w pracy nr 4).
5. Ocena zmian ekspresji wybranych mikroRNA u chorych z alergicznym nieżytem nosa poddawanych immunoterapii swoistej pyłkami traw (realizacja w pracy nr 4).
6. Określenie związku pomiędzy ekspresją wybranych mikroRNA a odpowiedzią na immunoterapię pyłkami traw u chorych z alergicznym nieżytem nosa (realizacja w pracy nr 4).

OMÓWIENIE BADAŃ

Praca nr 1. Krzysztof Specjalski, Ewa Jassem: MicroRNAs: Potential biomarkers and targets of therapy in allergic diseases? *Arch Immunol Ther Exp* 2019; 67: 213-223.

Celem pracy nr 1 było wytypowanie cząsteczek mikroRNA podlegających zmienionej ekspresji w chorobach alergicznych, w szczególności wpływających na równowagę Th1/Th2 lub promujących rozwój tolerancji immunologicznej.

Dokonano przeglądu piśmiennictwa dostępnego w bazach *PubMed*, *Medline* i *Scopus*. Zgromadzono 341 pozycji. Po usunięciu duplikatów, prac niepełnotekstowych oraz niezwiązanych z tematem wybrano 98 publikacji, na podstawie których przygotowano pracę nr 1.

Wynikiem pracy było wytypowanie mikroRNA związanych z:

- dojrzewaniem i polaryzacją limfocytów T (miR-21, miR-19a, miR-210);
- nasiloną sekrecją cytokin Th2 (miR-1248, miR-146b, miR-155, let-7);
- obniżoną sekrecją cytokin Th1 (miR-513-5p, miR-625-5p);
- kontrolą funkcji eozynofiliów (miR-21, miR-223);
- regulacją funkcji mięśni gładkich oskrzeli w astmie (miR-140-3p, miR-708, miR-142-3p).

W ten sposób częściowo realizowano **cel szczegółowy nr 1**.

Wytypowanie cząstek mikroRNA potencjalnie modulujących rozwój i przebieg chorób alergicznych IgE-zależnych oraz proces tolerancji immunologicznej umożliwiło przeprowadzenie kolejnych etapów projektu, w których określano ich ekspresję u chorych poddawanych immunoterapii alergenowej z powodu alergii na jad osy lub alergicznego nieżyty nosa (prace 3 i 4).

Praca nr 2. Krzysztof Specjalski, Agnieszka Maciejewska, Ryszard Pawłowski, Marta Chelmińska, Ewa Jassem: Changes in the expression of microRNA in the buildup phase of wasp venom immunotherapy: a pilot study. *Int Arch Allergy Immunol* 2016; 170: 97-100.

Poza opisanym powyżej przeglądem piśmiennictwa przeprowadzono badanie pilotażowe w celu ustalenia listy cząstek mikroRNA podlegających powtarzalnej ekspresji w grupie chorych z alergią na jad osy. Do badania włączono 7 chorych (5 mężczyzn, 2 kobiety; średni wiek: 47 lat) z wywiadem reakcji anafilaktycznej III lub IV stopnia w klasyfikacji Muellera po uzgodzeniu przez osę. Uczulenie na jad osy potwierdzono testami skórnymi oraz obecnością swoistych IgE w surowicy. Chorych zakwalifikowano do immunoterapii swoistej zgodnie z zaleceniami EAACI. Kurs wstępny VIT przeprowadzono metodą ultra rush, osiągając tolerancję kumulacyjnej dawki 101,1µg jadu w ciągu 3,5 godz. Krew żylną pobierano od uczestników przed rozpoczęciem kursu wstępnego VIT oraz 24 godziny po jego ukończeniu.

Z pełnej krwi wyizolowano RNA (Tempus Spin RNA Isolation Reagent Kit, *Applied Biosystems*, USA). Następnie techniką RT-PCR oznaczano ekspresję 740 mikroRNA (TaqMan Array Microfluidic Cards, *Applied Biosystems*, USA). Spośród wszystkich oznaczanych cząstek obecność 440 została potwierdzona u przynajmniej trzech chorych.

Na podstawie pracy nr 1 oraz pierwszego etapu pracy nr 2 wytypowano listę cząstek mikroRNA, które podlegają częstej ekspresji w badanej grupie i mogą odgrywać rolę w immunoterapii swoistej (cel szczegółowy nr 1).

Celem drugiego etapu pracy nr 2 była ocena ekspresji mikroRNA w czasie immunoterapii swoistej jadem osy. Ekspresja 440 mikroRNA została porównana w dwóch punktach czasowych - przed rozpoczęciem swoistej immunoterapii jadem osy oraz 24 godziny po zakończeniu kursu wstępnego. W drugim punkcie czasowym wykazano przynajmniej dwukrotny wzrost ekspresji 33 mikroRNA i przynajmniej dwukrotną redukcję ekspresji 34 mikroRNA. Istotnie statystycznie były wzrosty ekspresji miR-299, miR-29c oraz redukcje ekspresji miR-370, miR-539, miR-502-5p. Niektóre spośród cząstek o zmiennej ekspresji zostały uprzednio opisane w kontekście regulacji zapalenia typu Th2 lub aktywności tolerogennej. MiR-370, miR-376c, miR-130 zmniejszają ekspresję receptora dla TGF-β [92-94]. Natomiast zwiększenie aktywności TGF-β ma związek z miR-224, miR-181 [95-96]. MiR-106 blokuje syntezę IL-10 [97]. Rodzina let-7 ma właściwości przeciwzapalne; redukuje syntezę IL-13, IL-6 [57]. MiR-143 i miR-23a stymulują proliferację limfocytów T_{reg} i

zmniejszając syntezę receptora dla IL-13 [84]. W chorobach atopowych (astma, ANN, AZS) opisywano podwyższoną ekspresję miR-106, miR-485 oraz obniżoną w przypadku let-7, miR-224, miR-18a [45, 97-99]. Od czasu publikacji omawianych wyników ukazały się prace, które istotnie poszerzyły wiedzę na temat wielopunktowego, regulacyjnego działania wymienionych mikroRNA na zapalenie alergiczne oraz rozwój tolerancji immunologicznej. MiR-342-3p, którego związek z regulacją odpowiedzi immunologicznej był uprzednio nieznan, ma działanie przeciwzapalne, pośrednicząc w aktywności glikokortykosteroidów [100]. Rola miR-370, opisywanego w kontekście regulacji receptora TGF- β , jest bardziej złożona. Blokując translację FGF-1 (ang. *fibroblast growth factor 1*) wykazuje działanie przeciwzapalne i przeciwfibrotyczne [101]. Część miR-23a została powiązana z zapaleniem typu Th2; jej synteza jest wzmagana przez IL-4 [102]. Rodzina let-7, uprzednio wiązana głównie z regulacją sekrecji cytokin Th2, jest związana również z syntezą IL-17 oraz ekspresją receptora β 2-adrenergicznego [103-105].

Wniosek: W czasie wstępnego kursu immunoterapii swoistej jadłem osy zmienia się ekspresja cząstek mikroRNA regulujących m.in. syntezę cytokin Th2 oraz tolerogennych: IL-10 oraz TGF- β .

W pracy nr 2 zrealizowano tym samym częściowo **cel szczegółowy nr 3** projektu. Praca była pierwszym opublikowanym badaniem poświęconym ekspresji mikroRNA w czasie immunoterapii jadłem osy wskazujące na zmiany w ekspresji cząstek mogących wpływać na rozwój tolerancji immunologicznej. Zastosowany dobór punktów czasowych do oznaczeń ekspresji mikroRNA wynikał z faktu, że ochronny efekt immunoterapii jadłem osy obserwowany jest u chorych już po kursie wstępnym.

Z drugiej strony wiadomo jednak, że rozwój tolerancji alergenowej jest procesem złożonym i długotrwałym. Mechanizmy blokujące rozwój odpowiedzi na alergen są częściowo różne w czasie kursu wstępnego i w późniejszych miesiącach, kiedy prowadzony jest kurs podtrzymujący VIT. Z tego powodu zdecydowano o wykonaniu kolejnego badania, oceniającego ekspresję wybranych mikroRNA w dłuższej perspektywie czasowej.

Praca nr 3. Krzysztof Specjalski, Agnieszka Maciejewska, Ryszard Pawłowski, Maciej Zieliński, Piotr Trzonkowski, Michał Piłkuła, Ewa Jassem: Changing microRNA expression during three-month wasp venom immunotherapy. Immunol Invest 2019; 48: 835-843.

Celem pracy było porównanie ekspresji wybranych mikroRNA w grupach osób z alergią na jad osy oraz zdrowych (cel szczegółowy nr 2) oraz ocena zmienności ekspresji mikroRNA w czasie immunoterapii swoistej jadem osy (cel szczegółowy nr 3).

W badaniu określano ekspresję mikroRNA u pięciu osób poddanych immunoterapii jadem osy (3 kobiety, 2 mężczyzn; średni wiek: 46 lat) oraz pięciu osób zdrowych (2 kobiety, 3 mężczyzn; średni wiek: 38 lat). Kryteria kwalifikacji do grupy badanej nie różniły się od opisanego powyżej badania pilotażowego. Do grupy kontrolnej włączano osoby, które nie chorowały na żadne choroby przewlekłe, w tym alergiczne.

W grupie badanej ekspresja mikroRNA została oznaczona w trzech punktach czasowych: przed immunoterapią, po 24 godzinach od kursu wstępnego oraz po 3 miesiącach kursu podtrzymującego. Oznaczano obecność 96 mikroRNA wytypowanych na podstawie badania pilotażowego oraz zebranej literatury (prace 1, 2).

Spośród 96 oznaczonych cząstek mikroRNA, dwie (miR-601, miR-1201) miały mniejszą ekspresję u chorych z alergią na jad osy w porównaniu z osobami zdrowymi (realizacja **celu szczegółowego nr 2**). Różnice były istotne zarówno przed rozpoczęciem immunoterapii jak i w trakcie leczenia. Rola wymienionych cząstek w kontekście chorób alergicznych nie została dotychczas opisana. MiR-601 reguluje funkcję m.in. IL-6, IL-17, IL-8 oraz syntezę receptorów dla IL-1 i TGF- β [106]. Wpływa zatem na rozwój i rezolucję stanu zapalnego.

Wyniki pracy nr 3 częściowo potwierdziły wyniki wcześniejszej publikacji. Tak jak w pracy nr 2, po zakończeniu kursu wstępnego wykazano m.in. wzrost ekspresji tolerogennego miR-143, miR-1303, miR-1201 oraz spadek miR-342 kontrolującego funkcję limfocytów T_{reg} [107]. Wspomniane wczesne zmiany miały stały charakter, tj. zwiększona lub zmniejszona ekspresja w stosunku do pomiarów sprzed VIT utrzymywała się po 3 miesiącach kursu podtrzymującego. Z drugiej strony w czasie kursu podtrzymującego stwierdzono zmiany ekspresji, które nie występowały w żadnym z badań po kursie wstępnym. M.in. zmniejszyła się ekspresja miR-591, miR-643, miR-375 i miR-182. Ostatnia z wymienionych cząstek reguluje proliferację i różnicowanie limfocytów T, w tym limfocytów T_{reg} [108, 109]. W czasie przygotowywania publikacji nieznanym był punkt uchwytu miR-375. Później wykazano, że jest nim czynnik

transkrypcyjny KLF4 (ang. *Krueppel-like factor 4*). Skutkiem działania miR-375 jest zmniejszenie ekspresji GM-CSF, eotaksyny, IL-4 oraz IL-13 [110, 111] (realizacja **celu szczegółowego nr 3**).

Odnotowano również rozbieżności między dwiema pracami. Zmiany w ekspresji mikroRNA obserwowane w pracy nr 2 po kursie wstępnym (wzrost let-7d, miR-299-5p, miR-379) nie były potwierdzane po zakończeniu kursu wstępnego w pracy nr 3, a dopiero w kolejnym punkcie czasowym, tj. po 3 miesiącach. Może to wskazywać na osobniczą zmienność mechanizmów tolerancji immunologicznej. Prawdopodobny jest również wpływ małej liczebności badanych.

Do tej pory opublikowane zostały wyniki jednego badania określającego ekspresję mikroRNA w czasie immunoterapii jadami owadów. Karpiński i wsp. badali ekspresję 2549 mikroRNA we krwi pełnej 13 chorych z alergią na jad osy lub pszczoły poddawanych VIT. Pomimo wysokiej skuteczności immunoterapii potwierdzonej próbami prowokacyjnymi po 12 miesiącach leczenia nie wykazano jednak statystycznie istotnych zmian w ekspresji w porównaniu z czasem przed kursem wstępnym VIT [112].

Wnioski:

- 1. Ekspresja miR-601 oraz miR-1201 jest odmienna u osób z alergią na jad osy w porównaniu z osobami zdrowymi.**
- 2. W czasie immunoterapii, zarówno po kursie wstępnym jak i w czasie kursu podtrzymującego, dochodzi do zmian ekspresji mikroRNA związanych z regulacją zapalenia typu Th2.**

Powyższe wnioski odnoszą się do immunoterapii jadem osy, prowadzonej w celu redukcji ryzyka poużądleniowych reakcji anafilaktycznych w przyszłości. Nie jest pewne, czy te same mechanizmy epigenetyczne biorą udział w immunoterapii prowadzonej z powodu alergii wziewnej u chorych na astmę czy alergiczny nieżyt nosa. Choroby te charakteryzują się przewlekłym, najczęściej eozynofilowym, zapaleniem dróg oddechowych. Można domniemywać, że jest to związane z istotnymi zmianami epigenetycznymi, które potencjalnie są odwracane przez skuteczną immunoterapię alergenami powietrzno pochodnymi istotnymi dla danego pacjenta.

Praca nr 4. Krzysztof Specjalski, Agnieszka Maciejewska, Jan Romantowski, Ryszard Pawłowski Ewa Jassem, Marek Niedożytko: miRNA profiles change during pollen immunotherapy irrespective of clinical outcome. *Immunotherapy* 2022; 14: 433-444.

Celami pracy były:

- porównanie ekspresji wybranych mikroRNA u osób z alergicznym nieżytem nosa (z alergią na pyłek traw) i osób zdrowych (cel szczegółowy nr 4)
- ocena zmian ekspresji wybranych mikroRNA w czasie immunoterapii swoistej pyłkami traw (cel szczegółowy nr 5)
- określenie związku między odpowiedzią na leczenie a ekspresją wybranych mikroRNA (cel szczegółowy nr 6).

Do grupy badanej włączono 16 dorosłych chorych na alergiczny nieżyt nosa (5 kobiet, 11 mężczyzn, średni wiek: 33 lata). U wszystkich chorych objawy miały charakter wyłącznie sezonowy. Występowały od maja do lipca przez co najmniej dwa lata poprzedzające rekrutację. Uczulenie na pyłki traw potwierdzono testami skórnymi i/lub obecnością swoistych IgE w surowicy. W celu uniknięcia wpływu innych alergenów na objawy zgłaszane przez chorych oraz ekspresję mikroRNA nie włączano osób zgłaszających objawy alergii po innych niż trawy alergenach wziewnych lub z pozytywnymi wynikami testów skórných/sIgE z innymi alergenami.

Do grupy kontrolnej włączono 7 zdrowych dorosłych (2 kobiety, 5 mężczyzn, średni wiek: 32 lata), u których nie występowały choroby alergiczne ani inne choroby przewlekłe.

Ciężkość przebiegu alergicznego nieżytku nosa oceniano za pomocą wystandaryzowanego kwestionariusza *Allergy Control Score* (ACS) oceniającego nasilenie objawów oraz intensywność stosowanego leczenia.

Immunoterapię swoistą pyłkami traw prowadzono drogą podskórną, zgodnie z zaleceniami producentów preparatów alergenowych (*Allergovit Trawy*, *Allergopharma*; *Purethal Trawy*, *HAL Allergy*). W grupie badanej 13 osób podjęło immunoterapię; trzy osoby były leczone wyłącznie objawowo.

Krew pobierano od uczestników poddawanych immunoterapii przed rozpoczęciem leczenia oraz po 4 dawkach podtrzymujących. U badanych leczonych objawowo krew pobierano w tych samych przedziałach czasowych; w grupie kontrolnej – jednorazowo. Z pełnej krwi izolowano RNA (*Tempus Spin RNA Isolation Reagent Kit*, *Applied Biosystems*, USA). Następnie techniką

RT-PCR oznaczano ekspresję 48 mikroRNA (TaqMan Array Microfluidic Cards, *Applied Biosystems*, USA). Zestaw oznaczanych mikroRNA opracowano na podstawie wyników wcześniejszych badań dotyczących immunoterapii jadem osy (prace 2, 3) oraz piśmiennictwa wskazującego na możliwą rolę w regulacji tolerancji immunologicznej (m.in. regulacja IL-10, TGF- β) i zapalenia typu Th2 (regulacja IL-4, IL5, IL-13) – praca nr 1.

Spośród 48 oznaczanych cząstek mikroRNA, trzy podlegały nadekspresji w grupie chorych z alergicznym nieżytem nosa: miR-136, miR-208 oraz miR-190 (realizacja **celu szczegółowego nr 4**).

Zwiększenie ekspresji miR-190 u chorych na ANN zostało już opisane przez innych autorów [113]. Na modelach zwierzęcych wykazano, że miR-190 jest związane z blokowaniem działania prozapalnych cytokin: IL-6, TNF- α oraz indukcją przeciwzapalnej IL-10. MiR-136 ma z kolei działanie prozapalne promując syntezę IL-1, IL-6, TNF- α oraz czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa\beta$ [114-116]. Rola miR-208 w chorobach alergicznych nie jest znana, choć opisywano zwiększoną ekspresję tej cząstki w astmie [53]. Punktami uchwytu są liczne mRNA kodujące czynniki transkrypcyjne oraz receptor dla TGF- β . Reasumując, u chorych na ANN wykazano odmienną ekspresję mikroRNA regulujących proces zapalny [106].

Hierarchiczna analiza wariancji wykazała 27 różnic w ekspresji mikroRNA zależnych od immunoterapii pyłkami traw (**cel szczegółowy nr 5**). Dwukrotny wzrost/spadek ekspresji wykazano w przypadku 14 mikroRNA.

Stwierdzono m.in. istotne zmniejszenie ekspresji miR-498, miR-21, miR-22, miR-30a-5p oraz miR-19a. Wszystkie te cząstki podlegają nadekspresji w zarówno w ANN jak i astmie. Ułatwiają one rozwój zapalenia typu Th2 poprzez promowanie dojrzewania limfocytów T w kierunku Th2. Ich ekspresja koreluje ze stężeniami cytokin: IL-4, IL-5 i IL-13 [57, 79, 85]. Po publikacji omawianych wyników wpływ miR-19a na rozwój zapalenia typu Th2 powiązano z blokowaniem czynnika transkrypcyjnego RUNX3 (ang. *runt-related transcription factor*) zaangażowanego m.in. w regulację polaryzacji Th1/Th2 i rozwój zapalenia eozynofilowego [117]. Redukcja ich ekspresji może mieć związek z indukcją tolerancji w toku immunoterapii i wygaszeniem prozapalnych mechanizmów prowadzących do reakcji na alergeny w okresie pylenia.

W czasie immunoterapii stwierdzono również redukcję ekspresji miR-28-3p, miR-323-3p oraz miR-203. W czasie przygotowywania publikacji ich rola w patomechanizmie chorób alergicznych nie była jeszcze dobrze udokumentowana. Obecnie wiadomo już, że punktem uchwytu miR-323-3p jest SOCS5. Ekspresja miR-323-3p jest zwiększona w astmie i ulega redukcji po włączeniu leczenia przeciwzapalnego [118]. MiR-203 koreluje z rozległością zmian skórnych w przebiegu atopowego zapalenia skóry [119]. MiR-28-3p jest czułym markerem ciężkiej astmy [120].

W czasie SIT stwierdzono także istotne zmniejszenie ekspresji miR-146a. Cząstka ta podlega zwiększonej ekspresji w ANN i astmie. Jej ekspresja koreluje z eozynofilią krwi obwodowej oraz ciężkością objawów astmy [121]. W związku z występowaniem korelacji pomiędzy ekspresją miR-146a a parametrami wentylacyjnymi oraz zapaleniem ostatnio postulowano zastosowanie tej cząstki jako biomarkera ryzyka remodellingu, a tym samym- utrwalonej obturacji [122]. W modelach zwierzęcych wykazano, że miR-146a ułatwia rozwój tolerancji immunologicznej poprzez indukcję TGF- β [76, 123]. Ostatnio powiązано również przeciwzapalne działanie miR-146a z regulacją czynnika transkrypcyjnego NF κ B [124].

W badaniu Luo i wsp. wykazano wzrost ekspresji miR-146a w czasie immunoterapii swoistej alergenami roztoczy kurzu domowego [125]. Jest to wynik odwrotny niż w prezentowanej pracy. Różnice można tłumaczyć innym alergenem stosowanym w badaniach. Roztocze kurzu domowego to źródło alergenów całorocznych, na które chory jest ekspozycyjny w sposób ciągły, również w czasie SIT. W prezentowanej pracy badano chorych z alergią na pyłki poza okresem pylenia, a więc przy braku ekspozycji na istotny klinicznie alergen.

W czasie leczenia stwierdzono również zmniejszenie ekspresji niektórych cząstek o aktywności przeciwzapalnej, m.in. miR-181a (promującej IL-10 i TGF- β na drodze PI3K/Akt) oraz cząstek z rodziny let-7 (blokujących syntezę IL-13) [54, 126, 127]. Obecnie do tej grupy możemy zaliczyć również cząstkę miR-224. W ubiegłym roku opisano jej punkt uchwytu (CDK9, ang. *cyclin dependent kinase 9*) oraz wykazano, że podanie agomiru miR-224 redukuje objawy ANN oraz stężenie IgE i cytokin Th2 w modelu zwierzęcym [128]. Redukcję ekspresji przeciwzapalnych mikroRNA w czasie immunoterapii można wytłumaczyć zjawiskiem pętli sprzężeń zwrotnych. O ile stan zapalny pobudza mechanizmy go ograniczające, jego wygaszenie zmniejsza wtórnie syntezę cząstek przeciwzapalnych.

Zredukowana została również ekspresja miR-483-5p typowanej w niektórych badaniach jako potencjalny marker chorób atopowych oraz miR-145, której warianty polimorficzne zostały w ostatnich miesiącach powiązane z większym ryzykiem rozwoju astmy [47, 129].

W czasie SIT stwierdzono zwiększenie ekspresji mikroRNA związanych z regulacją równowagi Th1/Th2, m.in. miR-1248 regulującego IL-5 oraz miR-625, miR-513-5p regulujące cytokiny Th1, w tym IL-12 i IFN- γ [41, 59].

Przed rozpoczęciem immunoterapii chorzy na ANN charakteryzowali się zwiększoną ekspresją miR-208, miR-190 oraz miR-136 w porównaniu z grupą kontrolną. Po 6 miesiącach immunoterapii różnice między grupami stały się nieistotne. Wynik ten można wiązać z rozwojem tolerancji immunologicznej pyłków traw.

Pomiędzy chorymi na ANN poddawanyymi od 6 miesięcy SIT i grupą leczoną objawowo wykazano istotną różnicę w ekspresji miR-136 oraz miR-483-5p (obniżona ekspresja w grupie SIT). Nadekspresja miR-483-5p została uprzednio opisana w ANN i AZS. Ekspresja cząstki koreluje ze stężeniem całkowitego IgE w surowicy, choć mechanizm tego działania nie jest znany [47].

Prace oceniające ekspresję mikroRNA w czasie immunoterapii pyłkami są nieliczne. Ewentualne porównania wyników są utrudnione w związku z zastosowaniem różnych alergenów oraz metod immunoterapii. Po ukończeniu omawianej publikacji zostały opublikowane wyniki badania Jakwerth i wsp., w którym oceniono ekspresję 2549 mikroRNA w indukowanej płwocinie chorych z ANN poddawanych immunoterapii pyłkami traw. W grupie z ANN wykazano zwiększoną ekspresję 259 cząstek mikroRNA w porównaniu ze zdrowymi członkami grupy kontrolnej. W czasie immunoterapii odnotowano istotną redukcję ekspresji 21 mikroRNA oraz zwiększenie ekspresji 4 mikroRNA, w tym miR-3935 regulującego ekspresję receptora dla PGE₂. Autorzy wykazali, że w czasie immunoterapii dochodzi do zmniejszenia stężenia PGE₂ w płwocinie, co koresponduje z wynikami badania molekularnego [130].

W pracy nr 4 u chorych poddawanych immunoterapii pyłkami traw stwierdzono istotną redukcję objawów ANN oraz zapotrzebowania na leki w porównaniu z sezonem pylenia poprzedzającym terapię. Z uwagi na fakt, że włączano tylko osoby z alergią monowalentną, uniknięto interferencji związanych z wpływem innych alergenów. U osób leczonych objawowo różnice między kolejnymi sezonami były nieistotne statystycznie. Leczeni SIT zostali na podstawie uzyskanych wyników ACS podzieleni na dobrych i słabych responderów

(odpowiednio: 8 i 5 uczestników). Grupy nie różniły się istotnie ekspresją żadnego z badanych mikroRNA (**cel szczegółowy nr 6**). Być może wynikało to ze zbyt wczesnego i tylko jednokrotnego określania odpowiedzi na leczenie. W praktyce klinicznej jest wielu pacjentów, którzy redukcję objawów ANN dostrzegają dopiero w drugim sezonie pylenia w trakcie immunoterapii. Drugim ograniczeniem tej części badania była niedoskonałość oceny kwestionariuszowej. Mimo zastosowania wystandaryzowanej metody, ocena objawów zawsze pozostaje w dużej mierze subiektywna. W związku z tym istnieje możliwość rozbieżności między stopniem odnotowanej poprawy a rzeczywistym zjawiskiem tolerancji alergenów traw.

Wnioski:

- 1. Chorzy z ANN charakteryzują się zwiększoną ekspresją miR-136, miR-208, miR-190 (cel szczegółowy nr 4).**
- 2. W czasie immunoterapii swoistej stwierdza się istotne zmniejszenie ekspresji mikroRNA związanych z zapaleniem typu Th2 oraz zwiększenie ekspresji mikroRNA związanych z równowagą Th1/Th2 (cel szczegółowy nr 5).**
- 3. Nie stwierdzono różnic w ekspresji mikroRNA między chorymi dobrze i słabo odpowiadającymi na leczenie (cel szczegółowy nr 6).**

ZNACZENIE PRZEPROWADZONYCH BADAŃ I MOŻLIWOŚCI WYKORZYSTANIA UZYSKANYCH WYNIKÓW

Prezentowany cykl publikacji ma charakter nowatorski. Praca nr 2 była pierwszą publikacją poświęconą zmianom ekspresji mikroRNA w czasie immunoterapii jadem osy. Z kolei w pracy nr 4 po raz pierwszy oceniano tę ekspresję w czasie immunoterapii podskórnej pyłkami traw.

Cykl publikacji przyczynił się do lepszego zrozumienia epigenetycznych mechanizmów swoistej immunoterapii. Prezentowane wyniki sugerują, że zjawiska opisywane od dawna w czasie SIT (m.in. wydzielanie tolerogennych IL-10, TGF- β , supresja limfocytów Th2, proliferacja swoistych alergenowo limfocytów T_{reg}) są regulowane przez niektóre cząstki mikroRNA. Z drugiej strony, wykazano zaangażowanie cząstek do tej pory nieopisywanych w kontekście chorób IgE-zależnych. Rola niektórych spośród nich została wyjaśniona w okresie między publikacją prac a przygotowaniem niniejszego omówienia. W przypadku innych - pozostaje nieznana.

Badania dotyczące roli mikroRNA w patomechanizmie chorób alergicznych mają nie tylko wysoką wartość poznawczą. W przyszłości mogą mieć praktyczne zastosowanie w rozpoznawaniu chorób, fenotypowaniu pacjentów oraz nowoczesnych terapiach opartych na stosowaniu mikroRNA lub ich antagomirów.

5. Opis pozostałego dorobku i osiągnięć naukowych

5.1. Pozostały dorobek naukowy

5.1.1. Badania w zakresie biomarkerów astmy

Prowadziłem badania oceniające białko chitynazopodobne YKL-40 w roli markera astmy oraz jego związek z poszczególnymi fenotypami zapalnymi i klinicznymi.

W pierwszym etapie badań wykazałem, że stężenie YKL-40 w surowicy krwi chorych na astmę jest istotnie wyższe od osób zdrowych. Nie udało się jednak znaleźć związku YKL-40 z ciężkością choroby, stopniem kontroli objawów czy też innymi powszechnie stosowanymi biomarkerami (IgE).

Na dalszym etapie badań starałem się w większej grupie chorych określić różnice w poziomie YKL-40 pomiędzy odmiennymi fenotypami choroby. Potwierdziłem większe stężenia u chorych na astmę w porównaniu ze zdrowymi członkami grupy kontrolnej a także wykazałem, że stężenie YKL-40 koreluje z występowaniem zaostrzeń, brakiem kontroli astmy, wiekiem chorych oraz odwrotnie koreluje z FEV₁. Najwyższe poziomy YKL-40 stwierdzono w fenotypie astmy związanej z otyłością.

Powyższe badania były po publikacjach wielokrotnie cytowane przez innych badaczy oraz włączane do metaanaliz. Zwieńczeniem tej części mojej aktywności naukowej była niedawno opublikowana praca pogładowa podsumowująca kilkanaście lat badań nad białkami chitynazopodobnymi w kontekście astmy. Uznałem, że w związku z niską swoistością białka YKL-40 (nadekspresja w wielu chorobach nowotworowych, autoimmunologicznych, infekcjach) nie jest ono użyteczne w diagnostyce astmy. Może za to znaleźć zastosowanie w różnicowaniu słabiej poznanych fenotypów astmy (astma związana z otyłością, astma neutrofilowa), w których do tej pory nie wprowadzono do praktyki klinicznej szeroko dostępnych biomarkerów. Wraz z innymi biomarkerami YKL-40 może być stosowane w celu obiektywnego monitorowania przebiegu choroby. Jest do tego dobrym kandydatem m.in. ze względu na łatwość i powtarzalność oznaczeń.

Wynikiem opisanych badań były poniższe publikacje:

Krzysztof Specjalski, Ewa Jassem: YKL-40 protein is a marker of asthma. *J Asthma* 2011; 48: 767-772

Krzysztof Specjalski, Marta Chełmińska, Ewa Jassem: YKL-40 protein correlates with the phenotype of asthma. *Lung* 2015; 193: 189-194

Krzysztof Specjalski, Jan Romantowski, Marek Niedożytko: YKL-40 as a possible marker of neutrophilic asthma. *Front Med* 2023 doi: 10.3389/fmed.2023.1115938

5.1.2 Badania w zakresie nadwrażliwość na leki

We współpracy z profesorem Martą Chełmińską badałem wartość predykcijną poszczególnych metod oraz algorytmów diagnostycznych dostosowanych dla określonej grupy leków.

Pierwszym etapem badań było określenie negatywnej wartości predykcyjnej algorytmu umożliwiającego wytypowanie bezpiecznego leku znieczulającego miejscowo u 154 chorych, którzy w przeszłości przebyli reakcję nadwrażliwości po podaniu leku z tej grupy. Wykazałem, że kilkuetapowy protokół diagnostyczny oparty na zastosowaniu punktowych testów skórnych, testów śródskórnych oraz prób prowokacyjnych zapewnia bezpieczne wytypowanie środka znieczulającego. Negatywna wartość predykcyjna oceniana w czasie obserwacji w warunkach „*real life*” wynosiła 97%.

Podobne badanie przeprowadziłem w grupie chorych z wywiadem reakcji nadwrażliwości na amoksycylinę. W zależności od zgłaszanych przez uczestnika objawów protokół przewidywał: wykluczenie nadwrażliwości na amoksycylinę, typowanie bezpiecznej cefalosporyny lub alternatywnego bezpiecznego antybiotyku spoza grupy beta-laktamów. Negatywna wartość predykcyjna zastosowanego algorytmu diagnostycznego oceniana w czasie obserwacji w warunkach „*real life*” wynosiła 96%.

W innym projekcie u chorych z wywiadem wskazującym na nadwrażliwość na jodowe środki kontrastowe oceniałem z jednej strony skuteczność premedykacji podawanej przed zastosowaniem środka kontrastowego (przy zastosowaniu dwóch porównywanych schematów), z drugiej strony - określałem negatywną wartość predykcijną złożonego algorytmu diagnostycznego obejmującego punktowe testy skórne, testy śródskórne oraz próby prowokacyjne. Wykazałem, że u chorych z wywiadem łagodnej reakcji nadwrażliwości (pokrzywka, obrzęk naczynioruchowy) premedykacja systemowym glikokortykosteroidem i lekiem przeciwhistaminowym umożliwia bezpieczne podanie jodowego środka kontrastowego

w czasie kolejnych procedur diagnostyczno-leczniczych, niezależnie od zastosowanego schematu. W przypadku wywiadu wskazującego na anafilaksję w większości przypadków możliwe było z kolei skuteczne wytypowanie bezpiecznego jodowego środka kontrastowego przy zastosowaniu testów skórnych i prób prowokacyjnych.

Efektom wymienionych prac były publikacje:

Krzysztof Specjalski, Karolina Kita-Milczarska, Ewa Jassem: The negative predictive value of typing safe local aesthetics. *Int Arch Allergy Immunol* 2013; 162: 86-88

Krzysztof Specjalski, Karolina Kita-Milczarska, Marta Chełmińska, Ewa Jassem: Typing safe antibiotics in amoxicillin hypersensitive patients: development of a stepwise protocol. *Pneumonol Alergol Pol* 2016; 84: 16-21

Krzysztof Specjalski, Lucyna Górka, Beata Wajda, Marta Chełmińska, Ewa Jassem: Oral premedication in patients with a history suggesting hypersensitivity to iodinated contrast media. *Post Dermatol Alergol* 2020; 37: 520-523

5.2. Realizacja projektów finansowanych zewnętrznie

Kierownictwo projektu pt. *Analiza ekspresji wybranych mikroRNA w czasie immunoterapii alergenowej jadem osy* finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki (2017/01/X/NZ5/01044). Wyniki projektu zostały opublikowane w pracy nr 3 stanowiącej część dzieła.

5.3. Aktywny udział w konferencjach naukowych – najważniejsze zagraniczne streszczenia zjazdowe (pełna lista w załączniku nr 2):

Krzysztof Specjalski, Agnieszka Maciejewska, Michał Pikuła, Maciej Zieliński, Ryszard Pawłowski, Ewa Jassem: Expression of MicroRNAs during venom immunotherapy does not correlate with basophil activation test. *Allergy* 2019; vol. 74, suppl. 106, s. 657. European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress, 1-5 czerwca 2019, Lizbona, Portugalia

Krzysztof Specjalski, Lucyna Górka, Beata Wajda, Marta Chełmińska, Ewa Jassem: Premedication in patients with history suggesting hypersensitivity to iodinated contrast media. *Allergy* 2018; vol. 73, suppl. 105, s. 209. European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress, 26-30 maja 2018, Monachium, Niemcy

Krzysztof Specjalski, Marta Chełmińska, Ewa Jassem: Negative predictive value of typing safe iodinated contrast medium. *Allergy* 2017; vol. 72, Suppl. 103, s. 627-628. European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress, 17-21 czerwca 2017, Helsinki, Finlandia

Krzysztof Specjalski, Ewa Jassem: Expression of microRNA in initial phase of venom immunotherapy. Allergy 2015; vol. 70, suppl. 101, s. 199. European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress, 6-10 czerwca 2015, Barcelona, Hiszpania

Krzysztof Specjalski, Karolina Kita-Milczarska, Marta Chełmińska, Ewa Jassem: Negative predictive value of typing safe antibiotics in patients with a history of allergy to amoxicillin. European Academy of Allergy and Clinical Immunology Congress, 7-11 czerwca 2014, Kopenhaga, Dania

Krzysztof Specjalski, Ewa Jassem: YKL-40 correlates with the phenotype of asthma. WISC 2014: WAO International Scientific Conference 2014; XLI Annual Congress of the Brazilian Association of Allergy and Immunology (ASBAI), 6-9 grudnia 2014, Rio de Janeiro, Brazylia

Krzysztof Specjalski, Karolina Kita-Milczarska, Ewa Jassem: Negative predictive value of typing safe local anesthetics. Allergy 2013; vol. 68, suppl. 97, s. 383. European Academy of Allergy and Clinical Immunology and World Allergy Organization World Allergy and Asthma Congress, 22-26 czerwca 2013, Mediolan, Włochy

Krzysztof Specjalski, Lucyna Górka, Ewa Jassem: Provocation test in patients with different phenotypes of aspirin hypersensitivity. Clin Transl Allergy 2013; vol. 3, suppl. 1, p.8. EAACI International Severe Asthma Forum (ISAF 2012), 11-13 października 2012, Göteborg, Szwecja

Krzysztof Specjalski, Maria Porzezińska, Alicja Siemińska, Jan M. Słomiński, Ewa Jassem: Polymorphisms in genes associated with the development of steroids-induced adverse events Eur. Respir. J. 2012; vol. 40, suppl. 56, s. 66s-67s. 22nd Annual Congress ERS, 1-5 września 2012, Wiedeń, Austria

Krzysztof Specjalski, Ewa Jassem: Bronchial colonisation with *Chlamydophila pneumoniae* in patients with asthma. 30th Congress of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology, 11-15 czerwca 2011, Stambuł, Turcja

Krzysztof Specjalski, Katarzyna Lewandowska, Ewa Jassem: YKL-40 correlates with eosinophilia in asthmatic population. 30th Congress of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology, 11-15 czerwca 2011, Istambuł, Turcja

Krzysztof Specjalski, Ewa Jassem: Atypical infections and control of asthma. Eur. Respir. J. 2010; vol. 36, suppl. 54. 20th ERS Annual Congress, 18-22 września 2010, Barcelona, Hiszpania

Krzysztof Specjalski, Krzysztof Kuziemski, Katarzyna Lewandowska, Ewa Jassem: YKL-40 protein as a marker of asthma. Eur Respir J 2010; vol. 36, suppl. 54. 20th ERS Annual Congress, 18-22 September 2010, Barcelona, Hiszpania

5.4.Opracowanie recenzji artykułów naukowych dla czasopism medycznych:

- *European Respiratory Journal*, IF=33,801 pkt.
- *Inflammation*, IF=4,657 pkt.
- *Journal of Asthma*, IF=2,00 pkt.
- *Journal of Immunology Research*, IF=4,493 pkt.
- *African Journal of Biotechnology*, IF=0,573 pkt.
- *European Journal of Dermatology*, IF=2,805 pkt.

- *International Journal of Molecular Sciences*, IF=6,208 pkt.
- *Innate Immunity*, IF=2,951 pkt.
- *Advances in Respiratory Medicine*, IF=0,19 pkt.
- *Allergologia et Immunopathologia*, IF=2,094 pkt.
- *Journal of Medical Microbiology*, IF=3,196 pkt.
- *Journal of Asthma and Allergy*, IF=3,027 pkt.

6. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni, w szczególności zagranicznej

6.1. Współpraca z innymi jednostkami uczelni

Zakład Medycyny Sądowej

Współpracę z Zakładem Medycyny Sądowej nawiązałem w celu nauki technik laboratoryjnych (izolacja RNA, odwrotna transkrypcja, zastosowania kart mikrocieczowych), które były niezbędne w pracach obejmujących ocenę ekspresji mikroRNA. Części laboratoryjne tych projektów wykonywałem w Pracowni Biologii i Genetyki Sądowej z pomocą prof. dr hab. Ryszarda Pawłowskiego oraz dr hab. Agnieszki Maciejewskiej. Wynikiem współpracy były następujące publikacje:

Krzysztof Specjalski, Agnieszka Maciejewska, Ryszard Pawłowski, Marta Chełmińska, Ewa Jassem: Changes in the expression of microRNA in the buildup phase of wasp venom immunotherapy: a pilot study. *Int Arch Allergy Immunol* 2016; 170: 97-100

Krzysztof Specjalski, Agnieszka Maciejewska, Ryszard Pawłowski, Maciej Zieliński, Piotr Trzonkowski, Michał Piłkuła, Ewa Jassem: Changing microRNA expression during three-month wasp venom immunotherapy. *Immunol Invest* 2019; 48: 835-843

Krzysztof Specjalski, Agnieszka Maciejewska, Jan Romantowski, Ryszard Pawłowski, Ewa Jassem, Marek Niedożytko: miRNA profiles changes during grass pollen immunotherapy irrespective of clinical outcome. *Immunotherapy* 2022; 14: 433-444

Jan Romantowski, Agnieszka Maciejewska, Joanna Polańska, Eliza Wasilewska, **Krzysztof Specjalski**, Marta Chełmińska, Ewa Jassem, Marek Niedożytko: IFNG, FCER1A, PCDHB10 expression as a new potential marker of efficacy in grass pollen allergic-specific immunotherapy. *Post Dermatol Alergol* 2021; 38: 665-672

Zakład Immunologii

Współpraca została nawiązana w celu wykorzystania w diagnostyce alergologicznej testu aktywacji bazofilów. W wyniku współpracy powstały następujące publikacje:

Michał Pikuła, Maciej Zieliński, **Krzysztof Specjalski**, Wioletta Barańska-Rybak, Małgorzata Dawgul, Paulina Langa, Ewa Jassem, Wojciech Kamysz, Piotr Trzonkowski: In vitro evaluation of the allergic potential of antibacterial peptides: camel and citropin. *Chem Biol Drug Des* 2016; 87: 562-568

Krzysztof Specjalski, Agnieszka Maciejewska, Ryszard Pawłowski, Maciej Zieliński, Piotr Trzonkowski, Michał Pikuła, Ewa Jassem: Changing microRNA expression during three-month wasp venom immunotherapy. *Immunol Invest* 2019; 48: 835-843

Klinika Kardiologii

Efektom współpracy naukowej między Kliniką Kardiologii, Kliniką Pneumonologii oraz Kliniką Alergologii GUMed była monografia pt. „Serce i płuca” pod red. Ewy Jassem, Marcina Gruchały, Marka Niedożytko i Anny Kowalczyk (2022). Byłem współautorem 3 rozdziałów:

Krzysztof Specjalski, Marcin Wirtwein, Ivan Kocić: Wpływ wybranych leków przeciwaritmicznych na układ oddechowy.

Krzysztof Specjalski, Marta Chełmińska: Astma u chorych obciążonych chorobami układu krążenia: odmienności postępowania.

Marcin Wirtwein, Maria Porzezińska, **Krzysztof Specjalski**, Ivan Kocić: Krwioplucie u chorych leczonych przeciwkrzepliwie.

Klinika Pneumonologii

Uczestniczyłem w badaniach prowadzonych przez koleżanki i kolegów z Kliniki Pneumonologii poświęconych płucnej mikroangiopatii cukrzycowej oraz obturacyjnemu bezdechowi sennemu. Wynikiem były poniższe publikacje:

Krzysztof Kuziemski, **Krzysztof Specjalski**, Ewa Jassem: Diabetic pulmonary microangiopathy: fact or fiction? *Endokrynol Pol* 2011; 62: 171-175

Krzysztof Kuziemski, Joanna Pieńkowska, Wojciech Słomiński, **Krzysztof Specjalski**, Katarzyna Dziadziuszko, Ewa Jassem, Michał Studniarek, Renata Kalicka, Jan M. Słomiński: Role of qualitative chest perfusion computed tomography in detecting diabetic pulmonary microangiopathy. *Diabetes Res Clin Pract* 2011; 91: 80-86

Agnieszka Gorzewska, **Krzysztof Specjalski**, Jacek Drozdowski, Katarzyna Kunicka, Ewa Świerblewska, Leszek Bieniaszewski, Jan M. Słomiński, Ewa Jassem: Intima-media thickness in patients with obstructive sleep apnea without comorbidities.

6.2. Udział w badaniach wielośrodkowych i projektach międzynarodowych

Projekt POLKAAS – POLska Kohorta chorych na Astmę ASpirynową (Białystok, Gdańsk, Katowice, Kraków, Łódź, Warszawa)

Celem projektu jest lepsze poznanie uwarunkowań genetycznych, epigenetycznych, immunologicznych oraz metabolomiki choroby dróg oddechowych zaostrzanej aspiryną (N-ERD). W ośrodku gdańskim zajmuję się rekrutacją chorych, zbieraniem danych klinicznych oraz materiału do części laboratoryjnej badania.

Efektem dotychczasowej współpracy jest monografia, w której jestem autorem rozdziału „*Leczenie astmy w przebiegu N-ERD*”.

Wielośrodkowe badanie „Występowanie nowotworów u chorych poddawanych immunoterapii swoistej jadami owadów” (Białystok, Bydgoszcz, Gdańsk, Kraków, Lubin, Łódź, Warszawa, Wrocław, Zabrze)

Celem badania było określenie wpływu alergenowej immunoterapii swoistej na ryzyko i przebieg nowotworów. Wykazaliśmy, że zapadalność na nowotwory w grupie badanej, poddawanej immunoterapii, nie różniła się od danych dla populacji ogólnej. U chorych, którzy rozwinęli nowotwór śmiertelność nie różniła się istotnie od danych dla ogólnej populacji naszego kraju.

Moja rola polegała na opracowaniu bazy danych, ich analizie oraz przygotowaniu manuskryptu. Efektem pracy jest poniższy manuskrypt (obecnie konsultowany ze współautorami przez publikacją).

Marta Chełmińska, **Krzysztof Specjalski**, Ewa Jassem, Joanna Polańska, Karolina Kita, Lucyna Górka, Joanna Ditekowska, Urszula Wojciechowska, Marita Nitter-Marszalska, Piotr Kuna, Maciej Kupczyk, Jerzy Kruszewski, Aleksander Zakrzewski, Ewa Czarnobilska, Marcin Stobiecki, Rafał Krenke, Andrzej Dąbrowski, Artur Kwaśniewski, Jerzy Jarzab, Andrzej Bożek, Anna Bodzenta-Łukaszyk, Marcin Łukaszyk, Marek Kowalski, Ewa Smorawska-Sabanty, Andrzej Fal, Katarzyna Przybyłowska, Zbigniew Bartuzi, Krzysztof Pałgan, Marek Niedoszytko: Venom immunotherapy does not affect survival of patients with malignant tumor.

Członek ARIA Group (ang. *Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma*)

Efektem współpracy z grupą ekspertów ARIA Group są poniższe publikacje:

Jean Bousquet, Josep Anto, Wieńczysława Czarlewski, , **Krzysztof Specjalski** i wsp.: Cabbage and fermented vegetables: from death rate heterogeneity in countries to candidates for strategies of severe COVID-19. *Allergy* 2021; 76: 735-750

Jean Bousquet, Jean-Paul Cristol, Wieńczysława Czarlewski, , **Krzysztof Specjalski** i wsp.: Nrf2-interacting nutrients and COVID-19: time for research to develop adaptation strategies. Clin Transl Allergy 2020; 10: 1-7

7. Osiągnięcia dydaktyczne, organizacyjne oraz promujące naukę

7.1. Zajęcia dydaktyczne na uczelni

- zajęcia dydaktyczne (seminaria i ćwiczenia) z przedmiotu „Alergologia” dla studentów Wydziału Lekarskiego oraz English Division GUMed
- zajęcia dydaktyczne z przedmiotu „Choroby wewnętrzne” dla studentów Wydziału Lekarskiego oraz English Division GUMed
- zajęcia dydaktyczne (ćwiczenia) dla studentów kierunku lekarsko-dentystycznego
- zajęcia fakultatywne z zakresu alergologii (wykłady, ćwiczenia) dla studentów Wydziałów: Lekarskiego, Farmacji oraz Nauk o Zdrowiu

W 2022r. otrzymałem od Rektora Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego dyplom uznania dla najlepiej ocenianego nauczyciela w roku akademickim 2021/2022.

7.2. Kształcenie podyplomowe

- kierownictwo specjalizacji dwojga lekarzy w zakresie alergologii (dr n. med. Karolina Kita, dr n. med. Jan Romantowski)
- kierownictwo specjalizacji lekarza w zakresie chorób wewnętrznych (lek. Ewelina Harcęko-Zielińska)
- prowadzenie staży cząstkowych dla lekarzy specjalizujących się w zakresie alergologii lub chorób wewnętrznych
- wykłady na kursach dla lekarzy specjalizujących się w dziedzinie alergologii oraz dla diagnostów laboratoryjnych specjalizujących się w dziedzinie immunologii
- kierownictwo kursów specjalizacyjnych („*Diagnostyka chorób alergicznych*”, „*Choroby obturacyjne – astma i POChP*”) dla lekarzy w trakcie specjalizacji z alergologii lub chorób płuc
- dwukrotnie kierownictwo kursów specjalizacyjnych „*Choroby autoimmunizacyjne i alergiczne. Zaburzenia rozrodu na tle immunologicznym*” dla diagnostów laboratoryjnych w trakcie specjalizacji z immunologii

- od 8 lat organizuję spotkania szkoleniowe dla stażystów, rezydentów i młodych lekarzy Kliniki Alergologii i Pneumonologii UCK

7.3. Opieka naukowa nad doktorantami

Pełnię rolę promotora pomocniczego w przewodzie doktorskim lek. Mariki Gawinowskiej (tytuł rozprawy: „*Analiza porównawcza doustnej próby prowokacji aspirynowej i laboratoryjnego testu aktywacji bazofilów u osób diagnozowanych w kierunku nadwrażliwości na kwas acetylosalicylowy*”). Obrona pracy doktorskiej jest planowana w II połowie 2023r.

7.4. Osiągnięcia organizacyjne

- **współpraca z Europejską Siecią Szpitali Wolnych od Tytoniu** (ang. *European Network of Smoke-Free Hospitals, ENSH*).

ENSH jest organizacją pozarządową promującą politykę antynikotynową w krajach członkowskich UE oraz w krajach kandydujących do wspólnoty. W ramach grantu przyznanego ENSH przez Komisję Europejską w dniu 25.05.2007r. zorganizowałem w Gdańsku konferencję promującą ideę zakazu palenia tytoniu na terenie szpitali. W jej wyniku Akademickie Centrum Kliniczne w Gdańsku (obecnie: Uniwersyteckie Centrum Kliniczne) zostało pierwszym w Polsce szpitalem- członkiem ENSH.

- **współpraca ze środowiskiem pneumonologów francuskich.**

Kilkukrotnie uczestniczyłem aktywnie w konferencjach naukowych polskich i francuskich pulmonologów, których celem była wymiana doświadczeń klinicznych i naukowych. W ramach współpracy zorganizowałem Polsko-Francuską Konferencję Pulmonologiczną, która odbyła się w dniach 7-8 października 2011r. w Gdańsku.

7.5. Popularyzacja nauki

Kilkukrotnie aktywnie uczestniczyłem w imprezie „Piknik na Zdrowie” organizując z pomocą członków Studenckiego Koła Naukowego działającego przy Klinice Alergologii stoisko, w którym udzielano mieszkańcom Trójmiasta porad w zakresie profilaktyki, symptomatologii i diagnostyki chorób alergicznych.

8. Członkostwo w międzynarodowych i krajowych organizacjach oraz towarzystwach naukowych

- od 2010 r. członek Polskiego Towarzystwa Alergologicznego (PTA). W kadencji 2015-2018 członek Komisji Rewizyjnej Oddziału Gdańskiego PTA. W kadencji 2018-2021 oraz obecnej (2021-2024) członek zarządu i skarbnik Oddziału Gdańskiego PTA. W kadencji 2021-2024 delegat na Zjazd PTA.
- od 2006 r. członek *European Academy of Allergy and Clinical Immunology* (EAACI)
- członek grupy ARIA
- przedstawiciel Polski w *European Network of Smoke-Free Hospitals* (ENSH) w latach 2006-2008
- członek *European Respiratory Society* (ERS) w latach 2006-2012
- członek Pomorskiego Towarzystwa Przeciwytytoniowego od 2006r.

9. Nagrody za działalność naukową

Nagroda Rektora GUMed za obronę z wyróżnieniem oraz publikację wyników pracy doktorskiej (2011).

Nagroda Zespołowa II Stopnia Rektora GUMed za współautorstwo pracy pt. *In vitro evaluation of the allergic potential of antibacterial peptides: camel and citropin* (2016).

Silver Grant *European Respiratory Society* za doniesienie zjazdowe pt. *Influence of passive smoking in childhood on asthma development* (2008).

10. Analiza bibliometryczna (stan na dzień 04.04.2023)

Po doktoracie byłem autorem 25 prac, w tym 13 oryginalnych, 4 poglądowych, 2 kazuistycznych. Napisałem 4 rozdziały w książkach i monografiach. Jestem współautorem 21 streszczeń zjazdowych.

- całkowita punktacja IF (z wyłączeniem publikacji wchodzących w skład dzieła): 57,145
- całkowita punktacja MEiN (z wyłączeniem publikacji wchodzących w skład dzieła)– 1114;
- liczba cytowań (bez autocytowań): wg bazy *Scopus* - 400; wg *Web of Science* – 246;
- h-index wynosi 8 (wg *Web of Science*) oraz 10 (wg *Scopus*).

11. Piśmiennictwo

1. Asher M, Montefort S, Björkstén B, Lai C, Strachan D, Weiland S i wsp.: Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC Phase One and Three repeat multicountry cross-sectional surveys. *Lancet* 2006; 368: 733-743
2. Samoliński B, Raciborski F, Lipiec A, Tomaszewska A, Krzych-Fałta E, Samel-Kowalik P i wsp.: Epidemiologia chorób alergicznych w Polsce (ECAP). *Alergol Pol* 2014; 1: 10-18
3. Broide D: Molecular and cellular mechanisms of allergic disease. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 108: S65-S71
4. Bousquet J, Anto M, Bachert C, Baiardini I, Bosnic-Anticevich S, Canonica W i wsp.: Allergic rhinitis. *Nat Rev Dis Primers* 2020; 6: 95
5. Benson M, Adner M, Cardell L: Cytokines and cytokine receptors in allergic rhinitis: how do they relate to the Th2 hypothesis in allergy? *Clin Exp Allergy* 2001; 31: 361-367
6. Bateman E, Boushey H, Bousquet J, Busse W, Clark T, Pauwels R i wsp.: Can guideline-defined asthma control be achieved? The Gaining Optimal Asthma Control study. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 836-844
7. Licari A, Ciprandi G, Marseglia G, Silvestri M, Tosca M, Anastasio E i wsp.: Asthma in children and adolescents: the Control'Asma project. *Acta Biomed* 2020; 91: e2020002
8. Raheison-Semjen C, Izadifar A, Russier M, Rolland C, Aubert JP, Touboul C i wsp.: Self-reported asthma prevalence and management in adults in France in 2018: ASTHMAPOP survey. *Respir Med Res* 2021; 80: 100864
9. Bousquet P, Bachert C, Canonica G, Casale T, Mullol J, Klossek J i wsp.: Uncontrolled allergic rhinitis during treatment and its impact on quality of life: A cluster randomized trial. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 126: 666 - 668.e5
10. Van Bulck P, Cools L, Soumya S: A multicenter real-life study on the multiple reasons for uncontrolled allergic rhinitis. *Int Forum Allergy Rhinol* 2021; 11: 1452–1460
11. Lipp T, Acar Şahin A, Aggelidis X: Heterogeneity of pollen food allergy syndrome in seven Southern European countries: The @IT.2020 multicenter study. *Allergy* 2021; 76: 3041–3052
12. Ghunaim N, Grönlund H, Kronqvist M, Grönneberg R, Söderström L, Ahlstedt S i wsp.: Antibody profiles and self-reported symptoms to pollen-related food allergens in grass pollen-allergic patients from northern Europe. *Allergy* 2005; 60: 185-191
13. Pajno G, Barberio G, De Luca F, Morabito L, Parmiani S: Prevention of new sensitizations in asthmatic children monosensitized to house dust mite by specific immunotherapy. A six-year follow-up study. *Clin Exp Allergy* 2001; 31: 1392–1397
14. Cardona V, Ansotegui I, Ebisawa M, El-Gamal Y, Fernandez Rivas M, Fineman S i wsp.: World allergy organization anaphylaxis guidance 2020. *World Allergy Organ J* 2020; 13: 100472
15. Turner P, Jerschow E, Umasunthar T, Lin R, Campbell D, Boyle R: Fatal Anaphylaxis: Mortality Rate and Risk Factors. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2017; 5: 1169-1178
16. Charpin D, Birnbaum J, Vervloet D: Epidemiology of hymenoptera allergy. *Clin Exp Allergy* 1994; 24: 1010-1015
17. Gocki J, Bartuzi Z: Podskórna i podjęzykowa droga stosowania immunoterapii alergenowej. Schematy leczenia. *Alergol Pol* 2018; 5, 3: 137-144
18. Dorofeeva Y, Shilovskiy I, Tulaeva I i wsp.: Past, present, and future of allergen immunotherapy vaccines. *Allergy* 2021; 76: 131– 149
19. Muraro A, Roberts G: Allergen immunotherapy guidelines. Part 1: Systematic reviews. EAACI 2017
20. Schmitt J, Schwarz K, Stadler E, Wustenberg E: Allergy immunotherapy for allergic rhinitis effectively prevents asthma: results from a large retrospective cohort study. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 136: 1511-1516
21. Jacobsen L, Niggemann B, Dreborg S, Ferdousi H, Halken S, Host A i wsp.: Specific immunotherapy has long-term preventive effect of seasonal and perennial asthma: 10-year follow-up on the PAT study. *Allergy* 2007; 62: 943-948
22. Song W, Lin X, Chai R: Efficacy evaluation of standardized dust mite allergen specific immunotherapy to patients of allergic rhinitis. *Chin J Otorhinolar Head Neck Surg* 2014; 28: 300-302

23. Mueller H: Diagnosis and treatment of insect sensitivity. *J Asthma Res* 1966; 3: 331-333
24. Biló B, Rueff F, Mosbech H, Bonifazi F, Oude-Elberink J: The EAACI interest group on insect venom hypersensitivity. Diagnosis of Hymenoptera venom allergy. *Allergy* 2005; 60: 1339-1349
25. Bonifazi F, Jutel M, Biló B, Birnbaum J, Muller U: EAACI interest group on insect venom hypersensitivity. Prevention and treatment of Hymenoptera venom allergy: guidelines for clinical practice. *Allergy* 2005; 60: 1459-1470
26. Martini M, Corsi A, Agolini S, Marchionni A, Antonicelli L, Bilò M: High long-term efficacy of venom immunotherapy after discontinuation. *Allergy* 2020; 75: 1793-1796
27. Kołaczek A, Skorupa D, Antczak-Marczak M, Kuna P, Kupczyk M: Safety and efficacy of venom immunotherapy: a real life study. *Adv Dermatol Allergol* 2017; 34: 159-167
28. Malling H, Djurup R: Diagnosis and immunotherapy of mould allergy VII. IgG subclass response and relation to the clinical efficacy of immunotherapy with *Cladosporium*. *Allergy* 1988; 43: 60-70
29. Iliopoulos O, Proud D, Adkinson N, Creticos P, Norman P, Kagey-Sobotka A i wsp.: Effects of immunotherapy on the early, late, and rechallenge nasal reaction to provocation with allergen: changes in inflammatory mediators and cells. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 87: 855-866
30. Shamji M, Durham S: Mechanisms of allergen immunotherapy for inhaled allergens and predictive biomarkers. *J Allergy Clin Immunol* 2017; 140: 1485-1498
31. Bohle B, Gerstmayr M, Radakovics A, Jahn-Schmid B, Kinaciyan T, Ebner C: Sublingual immunotherapy induces IL-10-producing T regulatory cells, allergen-specific T-cell tolerance, and immune deviation. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120: 707-713
32. Sonoda E, Matsumoto R, Hitoshi Y, Ishii T, Sugimoto M, Araki S i wsp.: Transforming growth factor beta induces IgA production and acts additively with interleukin 5 for IgA production. *J Exp Med* 1989; 170: 1415-1420
33. Bellinghausen I, Metz G, Enk A, Christmann S, Knop J, Saloga J: Insect venom immunotherapy induces interleukin-10 production and a Th2-to-Th1 shift, and changes surface marker expression in venom-allergic subjects. *Eur J Immunol* 1997; 27: 1131-1139
34. Akdis C, Blaser K: IL-10-induced anergy in peripheral T cell and reactivation by microenvironmental cytokines: two key steps in specific immunotherapy. *FASEB J*. 1999; 13: 603-609
35. Shin J, Greer A: The role of FcεRI expressed in dendritic cells and monocytes. *Cell Mol Life Sci* 2015; 72: 2349-2360
36. Durham S, Ying S, Varney V, Jacobson M, Sudderick R, MacKay I i wsp.: Grass pollen immunotherapy inhibits allergen-induced infiltration of CD4+ T lymphocytes and eosinophils in the nasal mucosa and increases the number of cells expressing messenger RNA for interferon-gamma. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97: 1356-1365
37. Hamid Q, Schotman E, Jacobson M, Walker S, Durham S: Increases in IL-12 messenger RNA+ cells accompany inhibition of allergen-induced late skin responses after successful grass pollen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 254-260
38. Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, Tuschl T: Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science* 2001; 294: 853-858
39. Lee R, Feinbaum R, Ambros V: The *C. elegans* gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 1993; 75: 843-854
40. Jonas S, Izaurralde E: Towards a molecular understanding of microRNA-mediated gene silencing. *Nat Rev Gen* 2015; 16: 421-433
41. Skrzypski M, Dziadziuszko R, Jassem J: MicroRNA in lung cancer diagnostics and treatment. *Mut Res* 2011; 717: 25-31
42. Naqvi R, Gupta M, George A, Naqvi A: MicroRNAs in shaping the resolution phase of inflammation. *Semin Cell Dev Biol* 2022; 124: 488-62
43. Qin H, Xu B, Mei J, Li D, Liu J, Zhao D i wsp.: Inhibition of miR-221 suppresses the airway inflammation in asthma. *Inflammation* 2012; 35: 1595-1599
44. Panganiban R, Wang Y, Howrylak J, Chinchilli V, Craig T, August A i wsp.: Circulating microRNAs as biomarkers in patients with allergic rhinitis and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2016; 137: 1423-1432
45. Liu F, Qin H, Xu B, Zhou H, Zhao D: Profiling of microRNAs in pediatric asthma: upregulation of miRNA-221 and miRNA-485-3p. *Mol Med Rep* 2012; 6: 1178-1182

46. Lacedonia D, Palladino G, Foschino-Barbaro M, Scioscia G, Carpagnano G: Expression profiling of miRNA-145 and miRNA-338 in serum and sputum of patients with COPD, asthma, asthma-COPD overlap syndrome phenotype. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2017; 12: 1811-1817
47. Lv Y, Qi R, Xu J, Di Z, Zheng H, Huo W i wsp.: Profiling of serum and urinary microRNAs in children with atopic dermatitis. *PLoS ONE* 2014; 9: e115448
48. Zhou H, Li J, Gao P, Wang Q, Zhang J: MiR-155: a novel target in allergic asthma. *Int J Mol Sci* 2016; 17: DOI 10.3390/ijms17101773
49. Zhang Y, Sun E, Li X, Zhang M, Tang Z, He L i wsp.: MiR-155 contributes to Df1-induced asthma by increasing the proliferative response of Th cells via CTLA-4 downregulation. *Cellular Immunology* 2017; 314: 1-9
50. Guerau-de-Arellano M, Smith K, Godlewski J, Liu Y, Winger R, Lawler S i wsp.: Micro-RNA dysregulation in multiple sclerosis favours pro-inflammatory T-cell-mediated autoimmunity. *Brain* 2011; 134: 3578–3589
51. Panganiban R, Pinkerton M, Maru S, Jefferson S, Roff A, Ishmael F: Differential microRNA expression in asthma and the role of miR-1248 in regulation of IL-5. *Am J Clin Exp Immunol* 2012; 1: 154-165
52. Yang Y, Yin X, Yi J, Peng X: MiR-146a overexpression effectively improves experimental allergic conjunctivitis through regulating CD4+CD25-T cells. *Biomed Pharmacother* 2017; 94: 937-943
53. Polikepahad S, Knight M, Naghavi A, Oply T, Creighton C, Shaw C: Proinflammatory role for let-7 microRNAs in experimental asthma. *J Biol Chem* 2010; 285: 30139-30149
54. Kumar M, Ahmad T, Sharma A, Mabalirajan U, Kulshreshtha A, Agrawal A: Let-7 microRNA-mediated regulation of IL-13 and allergic airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 128: 1077-1085
55. Lu T, Hartner J, Lim E, Fabry V, Mingler M, Cole E: MicroRNA-21 limits in vivo immune response-mediated activation of the IL-12/IFN-gamma pathway, Th1 polarization and the severity of delayed-type hypersensitivity. *J Immunol* 2011; 187: 3362-3373
56. Long C, Lukomska E, Marshall N, Nayak A, Anderson S: Potential inhibitory influence of miRNA-210 on regulatory T cells during epicutaneous chemical sensitization. *Genes* 2017; 8: DOI:10.3390/genes8010009
57. Sawant D, Wu H, Kaplan M, Dent A: The Bcl6 target gene microRNA-21 promotes Th2 differentiation by a T cell intrinsic pathway. *Mol Immunol* 2013; 54: 435-442
58. Thiele S, Wittmann J, Jäck H, Pahl A: MiR-9 enhances IL-2 production in activated human CD4(+) T cells by repressing Blimp-1. *Eur J Immunol* 2012; 42: 2100–2108
59. Dong X, Xu M, Ren Z, Gu J, Lu M, Lu Q i wsp.: Regulation of CBL and ESR1 expression by microRNA-22-3p, 513a-5p and 625-5p may impact the pathogenesis of dust mite-induced paediatric asthma. *Int J Mol Med* 2016; 38: 446-456
60. Saha B, Bruneau J, Kodys K, Szabo G: Alcohol-induced miR-27a regulates differentiation and M2 macrophage polarization of normal human monocytes. *J Immunol* 2015; 194: 3079-3087
61. Swaminathan S, Suzuki K, Seddiki N, Kaplan W, Cowley M, Hood C i wsp.: Differential regulation of the let-7 family of microRNAs in CD4+ T cells alters IL-10 expression. *J Immunol* 2012; 188: 6238-6246
62. Yao G, Yin M, Lian J, Tian H, Liu L, Li X i wsp.: MicroRNA-224 is involved in transforming growth factor-beta-mediated mouse granulosa cell proliferation and granulosa cell function by targeting Smad4. *Mol Endocrinol* 2010; 24: 540–51
63. Karner J, Wawrzyniak M, Tankov S, Runnel T, Aints A, Kisand K i wsp.: Increased microRNA-323-3p in IL-22/IL-17-producing T cells and asthma: a role in the regulation of the TGF-β pathway and IL-22 production. *Allergy* 2017; 72: 55-65
64. Shaoqing Y, Ruxin Z, Guojun L, Zhiqiang Y, Hua H, Shudong Y i wsp.: Microarray analysis of differently expressed microRNAs in allergic rhinitis. *Am J Rhinol Allergy* 2011; 25: e-242-246
65. Suojalehto H, Toskala E, Kipelainen M, Majuri M, Mittis C, Lindstrom I i wsp.: MicroRNA profiles in nasal mucosa of patients with allergic and nonallergic rhinitis and asthma. *Int Forum Allergy Rhinol* 2013; 3: 612-620
66. Li L, Zhang S, Jiang X, Liu Y, Liu K, Yang C: MicroRNA-let-7e regulates the progression and development of allergic rhinitis by targeting suppressor of cytokine signalling 4 and activating Janus kinase 1- signal transducer and activator of transcription 3 pathway. *Exp Ther Med* 2018; 15: 3523-3529

67. Lu T, Munitz A, Rothenberg M: MicroRNA-21 is up-regulated in allergic airway inflammation and regulates IL-12p35 expression. *J Immunol* 2009; 182: 4994-5002
68. Bartel S, Carraro G, Alessandrini F, Krauss-Etschmann S, Ricciardolo F, Bellusci: MiR-142-3p is associated with aberrant Wingless/Intarase I (WNT) signaling during airway remodeling in asthma. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2018; DOI: 153.019.064.065
69. Hu R, Pan W, Fedulov A, Jester W, Jones M, Weiss S i wsp.: MicroRNA-10 controls airway smooth muscle cell proliferation via direct targeting of the PI3 kinase pathway. *FASEB J* 2014; 28: 2347-2357
70. Deshpande D, White T, Dogan S, Walseth T, Panettieri R, Kannan M: CD38/cyclic ADP-ribose signaling: role in the regulation of calcium homeostasis in airway smooth muscle. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005; 288: L773-L788
71. Liu Y, Sun X, Wu Y, Fang P, Shi H, Xu J i wsp.: Effects of miRNA-145 on airway smooth muscle cells function. *Mol Cell Biochem* 2015; 409: 135-143
72. Kuhn A, Schlauch K, Lao R, Halayko A, Gerthoffer W, Singer C: MicroRNA expression in human airway smooth muscle cells: role of miR-25 in regulation of airway smooth muscle phenotype. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2010; 42: 506-513
73. Chiba Y, Tanabe M, Goto K, Sakai H, Misawa M: Downregulation of miR-133a contributes to up-regulation of RhoA in bronchial smooth muscle cells. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 180: 713-719
74. Davis J, Sun M, Kho A, Moore K, Sylvia J, Weiss S i wsp.: Circulating microRNAs and association with methacholine PC20 in the childhood asthma management program cohort. *PLoS ONE* 2017; 12: e0180329
75. Xiao R, Noel A, Perveen Z, Penn A: In utero exposure to second-hand smoke activates pro-asthmatic and oncogenic miRNAs in adult asthmatic mice. *Environ Mol Mutagen* 2016; 57: 190-199
76. Liu W, Zeng Q, Luo R: Correlation between serum osteopontin and miR-181a levels in allergic rhinitis children. *Mediators of Inflammation* 2016; ID 9471215
77. Jia M, Chu C, Wang M: Correlation of microRNA profiles with disease risk and severity of allergic rhinitis. *Int J Clin Exp Pathol* 2018; 11: 1791-1802
78. He P, Ni J, Zhao H, Jin X: Diagnostic value of miR-221 and miR-142-3p expressions of allergic rhinitis and miR-221 level is positively correlated with disease severity. *Int J Clin Exp Med* 2017; 10: 7834-7842
79. Milger K, Gotschke J, Krause L, Nathan P, Alessandrini F, Tufman A i wsp.: Identification of a plasma miRNA biomarker signature for allergic asthma: a translational approach. *Allergy* 2017; 72: 1962-1971
80. Geachie M, Davis J, Kho A, Dahlin A, Sordillo J, Sun M i wsp.: Asthma remission: predicting future airways responsiveness using an miRNA network. *J Allergy Clin Immunol* 2017; 140: 598-600
81. Tang H, Jiang H, Zheng J, Li J, Wei Y, Xu G i wsp.: MicroRNA-106b regulates pro-allergic properties of dendritic cells and Th2 polarization by targeting early growth response-2 in vitro. *Int Immunopharmacol* 2015; 28: 866-874
82. Teng Y, Zhang R, Liu C, Zhou L, Wang H, Zhuang W i wsp.: MiR-143 inhibits interleukin-13-induced inflammatory cytokine and mucus production in nasal epithelial cells from allergic rhinitis patients by targeting IL13R α 1. *Bioch Biophys Res Commun* 2015; 457: 58-64
83. Yu S, Zhang R, Zhu C, Cheng J, Wang H, Wu J: MircoRNA-143 downregulates interleukin-13 receptor alpha-1 in human mast cells. *Int J Mol Sci* 2013; 14: 16958-16969
84. Zhao C, Wang W, Yao H, Wang X: SOCS3 in upregulated and targeted by MiR30a-5p in allergic rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol* 2018; DOI: 10.1159/000486857
85. Wang T, Chen D, Wang P, Xu Z, Li Y: MiR-375 prevents nasal mucosa cells from apoptosis and ameliorates allergic rhinitis via inhibiting JAK3/STAT3 pathway. *Biomed Pharmacother* 2018; 103: 621-627
86. Deng Y, Yang Y, Wang S, Li F, Liu M, Hua Q i wsp.: Intranasal administration of lentiviral miR-135a regulates mast cell and antigen-induced inflammation by targeting GATA3. *PLoS ONE* 2015; 10: e0139322
87. Xiao L, Jiang L, Hu Q, Lu Y: MicroRNA-133b ameliorates allergic inflammation and symptom in murine model of allergic rhinitis by targeting Nlrp3. *Cell Physiol Biochem* 2017; 42: 901-912
88. Niu R, Xiao X, Liu B, Li Y, Zhong Y, Ma L: Inhibition of airway inflammation in a cockroach allergen model of asthma by agonists of miRNA-33b. *Sci Rep* 2017; 7: 7409
89. Qin H, Xu B, Mei J, Li D, Liu J, Zhao D i wsp.: Inhibition of miR-221 suppresses the airway inflammation in asthma. *Inflammation* 2012; 35: 1595-1599

90. Collison A, Herbert C, Siegle J, Mattes J, Foster P, Kumar R: Altered expression of microRNA in the airway wall in chronic asthma: miR-126 as a potential therapeutic target. *BMC Pulm Med* 2011; 29: 29
91. McClure C, Brudecki L, Fergusson D, Yao Z, Mooman J, McCall C i wsp.: MicroRNA 21 (miR-21) and miR-181b couple with NFI-A to generate myeloid-derived suppressor cells and promote immunosuppression in late sepsis. *Infect Immun* 2014; 82: 3816-3825
92. Fu G, Ye G, Nadeem L, Ji L, Manchanda T, Wang Y i wsp.: MicroRNA-376c impairs transforming growth factor-beta and nodal signaling to promote trophoblast cell proliferation and invasion. *Hypertension* 2013; 614: 864-882
93. Lo S, Hung P, Chen J, Tu H, Fang W, Chen C i wsp.: Overexpression of miR-370 and downregulation of its novel target TGFb-RII contribute to the progression of gastric carcinoma. *Oncogene* 2012; 31: 226-237
94. Li L, Li G, Yu C, Shen Z, Xu C, Feng Z i wsp.: A role of microRNA-370 in hepatic ischaemia-reperfusion injury by targeting transforming growth factor- β receptor II. *Liver Int* 2015; 35: 1124-1132
95. Redshaw N, Camps C, Sharma V, Motallebipour M, Guzman-Ayala M: TGF-b/Smad2/3 signaling directly regulates several miRNAs in mouse ES cells and early embryos. *PLoS ONE* 2013; 8: e55186. doi:10.1371/journal.pone.0055186
96. Liang M, Yao G, Yin M, Lü M, Tian H, Liu L i wsp.: Transcriptional cooperation between p53 and NF- κ B p65 regulates microRNA-224 transcription in mouse ovarian granulosa cells. *Mol Cell Endocrinol* 2013; 370: 119-129
97. Sharma A, Kumar M, Ahmad T, Mabalirajan U, Aich U, Agrawal A i wsp.: Antagonism of mmu-mir-106a attenuates asthma features in allergic murine model. *J Appl Physiol* 2012; 113: 459-464
98. Polikepahad S, Creighton C, Zhu H, Harris A, Coarfa C, Berel D i wsp.: Differentially expressed microRNAs in allergic asthma target genes underlying airway hyperresponsiveness and goblet cell hyperplasia. *J Immunol* 2009; 182: 136
99. Suojalehto H, Lindström I, Majuri M, Mitts C, Karjalainen J, Wolff H i wsp.: Altered microRNA expression of nasal mucosa in long-term asthma and allergic rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol* 2014; 163: 168-178
100. Kim D, Nguyen Q, Lee J, Lee S, Janocha A, Kim S i wsp.: Anti-inflammatory roles of glucocorticoids are mediated by Foxp3⁺ regulatory T cells via a miR-342-dependent mechanism. *Immunity* 2020; 53:581-596.e5
101. Li C, Deng C, Zhou T, Hu J, Dai B, Yi F i wsp.: MicroRNA-370 carried by M2 macrophage-derived exosomes alleviates asthma progression through inhibiting the FGF1/MAPK/STAT1 axis. *Int J Biol Sci* 2021; 17:1795-1807
102. Jin A, Bao R, Roth M, Liu L, Yang X, Tang X i wsp.: MicroRNA-23a contributes to asthma by targeting BCL2 in airway epithelial cells and CXCL12 in fibroblasts. *J Cell Physiol* 2019; 234: 21153-21165
103. Newcomb D, Cephus J, Boswell M, Fahrenholz J, Langley E, Feldman A i wsp.: Estrogen and progesterone decrease let-7f microRNA expression and increase IL-23/IL-23 receptor signaling and IL-17A production in patients with severe asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 136: 1025-1034.e11
104. Su B, Han H, Gong Y, Li X, Ji C, Yao J i wsp.: Let-7d inhibits intratumoral macrophage M2 polarization and subsequent tumor angiogenesis by targeting IL-13 and IL-10. *Cancer Immunol Immunother* 2021; 70: 1619-1634
105. Kim D, Cho S, Woo J, Liggett S: A CREB-mediated increase in miRNA let-7f during prolonged β -agonist exposure: a novel mechanism of β_2 -adrenergic receptor down-regulation in airway smooth muscle. *FASEB J* 2018; 32:3680-3688
106. Target Scan Human Database. Prediction of microRNA targets. <https://targetscan.org>
107. Hezova R, Slaby O, Faltejskova P, Mikulkova Z, Buresova I, Raja K i wsp.: MicroRNA-342, microRNA-191 and microRNA-510 are differentially expressed in T regulatory cells of type 1 diabetic patients. *Cell Immunol* 2010; 260: 70-74.
108. Bothur E, Raifer H, Haftmann C, Stittrich A, Brustle A, Brenner D i wsp.: Antigen receptor-mediated depletion of FOXP3 in induced regulatory T-lymphocytes via PTPN2 and FOXO1. *Nat Commun* 2015; 6. DOI:10.1038/ncomms9576
109. Kastle M, Bartel S, Geillinger-Kastle K, Irmeler M, Beckers J, Ryffel B i wsp.: MicroRNA cluster 106a-363 is involved in T helper 17 cell differentiation. *Immunol* 2017; 152: 402-413.

110. Wang Y, Mu Z: The influence of overexpressions of microRNA-375 on the expression of thymic stromal lymphopoietin and IL-4, IL-13 in allergic rhinitis mice. *Asian Pac J Trop Med* 2018; 11: 43
111. Wang T, Wang P, Chen D, Xu Z, Yang L: circARRDC3 contributes to interleukin-13-induced inflammatory cytokine and mucus production in nasal epithelial cells via the miR-375/KLF4 axis. *Mol Med Rep.* 2021; 23:141. doi: 10.3892/mmr.2020.11780
112. Karpinski P, Kahraman M, Ludwig N, Skiba P, Kosińska M, Rosiek-Biegus M i wsp. Limited long-term impact of insect venom immunotherapy on the micro-RNA landscape in whole blood. *J Investig Allergol Clin Immunol* 2019; 29:206-212
113. Wu G, Yang G, Zhang R, Xu G, Zhang L, Wen W i wsp.: Altered microRNA expression profiles in extracellular vesicles in nasal mucus from patients allergic rhinitis. *Allergy Asthma Immunol Res* 2015; 7: 449-457
114. He J, Zhao J, Peng X, Shi X, Zong S, Zeng G: Molecular mechanism of miR-136-5p targeting NF- κ B/A20 in the IL-17-mediated inflammatory response after spinal cord injury. *Cell Physiol Biochem* 2017; 44: 1224-1241
115. Deng G, Gao Y, Cen Z: MiR-136-5p regulates the inflammatory response by targeting IKK/NF- κ B/A20 pathway after spinal cord injury. *Cell Physiol Biochem* 2018; 50: 512-524
116. Xu Y, Li X, Li H, Zhong L, Lin Y, Xie J i wsp.: Circ_0023404 sponges miR-136 to induce HK-2 cells injury triggered by hypoxia/reoxygenation via up-regulating IL-6R. *J Cell Mol Med* 2021; 25: 4912-4921
117. He S, Zhou J, Ma Y, Wang W, Yang J: MicroRNA-19a Inhibition Directly and Indirectly Ameliorates Th2 Airway Inflammation in Asthma by Targeting RUNX3. *Inflammation* 2022. doi: 10.1007/s10753-022-01739-5
118. Ming X, Yu X, Li J, Wang J, Zheng J, Xiong L: Salidroside attenuates airway inflammation and remodeling via the miR-323-3p/SOCS5 axis in asthmatic mice. *Int Arch Allergy Immunol* 2022; 183: 424-434
119. Hernández-Rodríguez R, Amezcua-Guerra L: The potential role of microRNAs as biomarkers in atopic dermatitis: a systematic review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2020; 24:11804-11809
120. Kyyaly M, Sanchez-Elsner T, He P i wsp. Circulating miRNAs- a potential tool to identify severe asthma risk? *Clin Transl Allergy* 2021; 11: e12040. doi: 10.1002/ctt2.12040
121. Lambert K, Roff A, Panganiban R, Douglas S, Ishmael F: MicroRNA-146a is induced by inflammatory stimuli in airway epithelial cells and augments the anti-inflammatory effect of glucocorticoids. *PLOS One* 2018; 13: e0205434
122. Gagliardo R, Ferrante G, Fasola S, DiVincenzo S, Pace E, La Gtutta S: Resolvin D1 and miR-146a are independent distinctive parameters in children with moderate and severe asthma. *Clin Exp Allergy* 2021; 51: 350-353
123. Luo X, Han M, Liu J, Wang Y, Luo X, Zheng J i wsp.: Epithelial cell-derived microRNA-146a generates interleukin-10 producing monocytes to inhibit nasal allergy. *Sci Rep* 2015; DOI: 10.1038/srep15937
124. Laanesoo A, Urgard E, Periyasamy K, Laan M, Bochkov Y, Aab A i wsp.: Dual role of the miR-146 family in rhinovirus-induced airway inflammation and allergic asthma exacerbation. *Clin Transl Med* 2021; 11: e427. doi: 10.1002/ctm2.427
125. Luo X, Hong H, Tang J, Wu X, Lin Z, Ma R i wsp.: Increased expression of miR-146a in children with allergic rhinitis after allergen-specific immunotherapy. *Allergy Asthma Immunol Res* 2016; 8: 132-140
126. Liu W, Ouyang H, Zeng Q, Luo R, Lu G: Decreased Treg-derived miR-181a and miR-155 correlated with reduced number and function of Treg cells in allergic rhinitis children. *Eur Arch Otorhin* 2019; 276: 1089-1094
127. Zen Q, Liu W, Luo R, Lu G: MicroRNA-181a and microRNA-155 are involved in the regulation of the differentiation and function of regulatory T cells in allergic rhinitis children. *Pediatr Allergy Immunol* 2019; 30: 434-442
128. Wang S, Wang L, Hu H, Dong P: MiR-224 ameliorates inflammation and symptoms in mouse model of allergic rhinitis by targeting CDK9. *Allergol Immunopathol* 2021; 49: 80-88
129. Wang S, Tsai C, Chang W, Hsia N, Mong M, Wang Y i wsp.: Genetic variants in miR-145 gene are associated with the risk of asthma in Taiwan. *Sci Rep* 2022; 12: 15155. doi: 10.1038/s41598-022-18587-w

130. Jakwerth C, Chaker A, Guerth F, Oelsner M, Pechtold L, Bonsen L i wsp.: Sputum microRNA-screening reveals Prostaglandin EP3 receptor as selective target in allergen-specific immunotherapy. Clin Exp Allergy 2021; 51:1577-1591

Krzysztof Specjalski