

**Streszczenie pracy doktorskiej mgr Anny Skalkowskiej pt.: „Badanie wpływu wybranych składników zanieczyszczenia powietrza na funkcje komórek odczynu zapalnego *in vitro* oraz na przebieg kolagenowego zapalenia stawów u myszy”**

Pyły obecne w zanieczyszczonym powietrzu mają związek z różnymi schorzeniami o podłożu zapalnym, głównie z chorobami układu oddechowego i układu krążenia. Rola pyłów w rozwoju stanu zapalnego jest tematem licznych prac badawczych. Niektóre z nich sugerują, że pyły powodują jego zaostrzenie, a także wpływają na wzrost zapadalności na choroby o podłożu zapalnym.

Celem pracy doktorskiej była ocena pyłów PM (mieszanina związków organicznych i nieorganicznych) oraz PM $\Delta$ C (pozbawionych części organicznej), jako potencjalnych induktorów stresu oksydacyjnego oraz stanu zapalnego w modelu *in vitro*. Badano także, jak ekspozycja na pyły wpływa na zaostrzenie stanu zapalnego w modelu mysim CIA (kolagenowe zapalenie stawów).

W przeprowadzonych badaniach wykazano, że referencyjne pyły NIST SRM1648a (PM oraz PM $\Delta$ C) w stężeniach powyżej 100  $\mu$ g/ml wykazują *in vitro* właściwości cytotoksyczne wobec mysich makrofagów otrzewnowych. PM w stężeniach niecytotoksycznych (1 - 30  $\mu$ g/ml) stymulowały komórki do zwiększonej syntezy mediatorów odczynu zapalnego (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-12p40 i IL-10, PGE<sub>2</sub>). Efekt ten nie był widoczny dla pyłów pozbawionych części organicznej (PM $\Delta$ C). Ponadto ekspozycja na niskie, nieimmunostymulujące stężenia zarówno PM jak i PM $\Delta$ C zwiększyła reaktywność makrofagów na prozapalne czynniki bakteryjne. Makrofagi eksponowane na PM / PM $\Delta$ C i następnie stymulowane LPS produkowały statystycznie więcej TNF- $\alpha$ .

W badaniach testowano także właściwości oksydacyjne PM / PM $\Delta$ C metodą chemiluminescencji zależnej od luminolu (LCL). Nie zaobserwowano bezpośredniego wpływu pyłów na produkcję reaktywnych form tlenu (RFT) przez neutrofile. Natomiast stwierdzono, że immunostymulujące stężenia PM, a zwłaszcza PM $\Delta$ C, hamują produkcję RTF przez neutrofile stymulowane opsonizowanym zymosanem.

Ponadto zaobserwowano, że ekspozycja myszy na PM / PM $\Delta$ C drogą inhalacji w modelu doświadczalnym kolagenowego zapalenia stawów (CIA) przyspiesza występowanie zapalenia stawów i zaostrza jego objawy. Zaostrzenie objawów nie korelowało ze wzrostem poziomu przeciwciał anty-kolagenowych (IgG, IgG2a), kluczowych w patogenezie kolagenowego zapalenia stawów u myszy.

Uzyskane wyniki sugerują, że zarówno w przebiegu infekcji bakteryjnych, jak i w przebiegu chorób autoimmunizacyjnych / autozapalnych ekspozycja na pyły zawarte w powietrzu może nasilać / zaostrzać stan zapalny.

Należy jednak nadmienić, że nasz model badawczy posiada pewne ograniczenia. Badania przeprowadzono na zwierzęcych komórkach stanu zapalnego i na zwierzęcym modelu zapalenia stawów. Ponadto analizowano jeden rodzaj pyłów (NIST SRM1648a) o określonym składzie związków nieorganicznych (metali przejściowych) i związków węgla. Zatem dla potwierdzenia naszych wyników i określenia ich znaczenia w praktyce klinicznej konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań na innych modelach doświadczalnych (np. na modelu ludzkich makrofagów płucnych) wykorzystując pyły o różnym składzie chemicznym.

## **ABSTRACT**

Particulate matter (PM) present in contaminated air are related to various inflammatory diseases, such as respiratory and cardiovascular ones. The role of PM in the development of inflammation constitutes a subject of numerous studies. Some of them suggest that dusts exacerbate inflammation and increase the incidence of inflammatory diseases.

The aim of the PhD thesis is to evaluate PM (a mixture of organic and inorganic compounds) and PM $\Delta$ C (devoid of organic part) as potential inductors of oxidative stress and inflammation *in vitro*. It has been also investigated how exposure to PM exacerbates inflammation in the CIA (collagen arthritis) mice model *in vivo*.

The study revealed that reference NIST SRM1648a (PM and PM $\Delta$ C) in concentrations above 100  $\mu$ g/ml show *in vitro* cytotoxic properties against peritoneal macrophages mice. PM in non-cytotoxic concentrations (1 - 30  $\mu$ g/ml) stimulated these cells to the increased synthesis of inflammatory mediators (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-12p40, IL-10, PGE2). This effect was not observed for dusts devoid of organic part (PM $\Delta$ C). Moreover, exposure to low, non-immunostimulating concentrations of both PM and PM $\Delta$ C increased the reactivity of macrophages to proinflammatory bacterial agents (LPS). Macrophages exposed to PM/PM $\Delta$ C and then stimulated by LPS produced statistically more TNF- $\alpha$ .

The oxidative properties of PM / PM $\Delta$ C were also tested by luminol dependent chemiluminescence (LCL). No direct effect of dusts on the production of reactive oxygen

species (ROS) by neutrophils was observed. On the other hand, immunostimulating concentrations of PM, especially PM $\Delta$ C, inhibited the production of ROS by neutrophils stimulated by opsonized zymosan.

Moreover, it was observed that exposure of mice to PM / PM $\Delta$ C by inhalation in the experimental model of collagen arthritis (*CIA*) accelerated the occurrence of arthritis and exacerbates its symptoms. The aggravation of the symptoms did not correlate with the increase in anti-collagen antibodies (IgG, IgG2a), essential for the pathogenesis of collagen arthritis in mice.

The obtained results suggest that both in the course of bacterial infections and in the course of autoimmune/auto-inflammatory diseases, exposure to airborne dusts may intensify / exacerbate inflammation.

It should be noted, however, that our research model has certain limitations. The research was carried out on animal cells of inflammation and on the animal model of arthritis. In addition, one type of dust (NIST SRM1648a) with a specific composition of inorganic compounds (transition metals) and carbon compounds was analysed. Therefore, in order to confirm our results and determine their significance in clinical practice, it is necessary to conduct further studies on other experimental models (e.g. on the model of human pulmonary macrophages) using dusts of different chemical composition.