



Uniwersytet  
ŁÓDZKI



**WYDZIAŁ BIOLOGII  
i OCHRONY ŚRODOWISKA**

Uniwersytet Łódzki

## **AUTOREFERAT**

**Dr Agnieszka Krupa**

Pracownia Gastroimmunologii

Katedra Immunologii I Biologii Infekcyjnej

Uniwersytet Łódzki

Łódź 2018

## Spis treści

- I. DYPLOMY I STOPNIE NAUKOWE
- II. INFORMACJE O ZATRUDNIENIU
- III. TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO
- IV. PUBLIKACJE WCHODZĄCE W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO
- V. OMÓWIENIE OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO PRZEDŁOŻONEGO DO OCENY

### 1. Wprowadzenie

**Publikacja nr 1** “Proinflammatory activity of anti-IL-8 autoantibody:IL-8 complexes in alveolar edema fluid from patients with acute lung injury”. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2004 Jun;286(6): L1105-13

**Publikacja nr 2** “Anti-IL-8 autoantibody:IL-8 immune complexes suppress spontaneous apoptosis of neutrophils”. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2007 Aug;293(2): L364-74

**Publikacja nr 3** “Anti-chemokine autoantibody:chemokine immune complexes activate endothelial cells via IgG receptors”. Am J Respir Cell Mol Biol. 2009 Aug;41(2):155-69

**Publikacja nr 4** “Anti-KC autoantibody:KC complexes cause severe lung inflammation in mice via IgG receptors”. Am J Respir Cell Mol Biol. 2007 Nov;37(5):532-43

**Publikacja nr 5** (praca przeglądowa) “Anti-interleukin-8 autoantibody: interleukin-8 immune complexes in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome”. Clin Sci (Lond). 2008 Mar;114(6):403-412 (review)

### 2. Literatura

## I. DYPLOMY I STOPNIE NAUKOWE

**2001** - doktor nauk biologicznych w dyscyplinie biologia, specjalność immunologia, uchwała Rady Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego z dnia 29 września 2001r.

Temat rozprawy doktorskiej: „Produkcja cytokin prozapalnych przez makrofagi osiadłe otrzewnej myszy szczepów BALB/c i C57BL6 różniących się naturalną odpornością na zakażenie pałeczkami *Listeria*” (promotor Prof. dr hab. Teresa Gościcka; recenzenci: Prof. dr hab. Wiesława Rudnicka, Prof. dr hab. Ewa Brzezińska-Błaszczyk).

**1996** - magister biologii ze specjalnością mikrobiologia

Praca magisterska wykonana w Katedrze Immunologii na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Łódzkiego. Tytuł pracy: „Opracowanie metody badania migracji kierunkowej makrofagów otrzewnej myszy BALB/c indukowanej antygenem LA” (opiekun Prof. dr hab. Teresa Gościcka).

**1991-1996** - studia stacjonarne dzienne magisterskie na kierunku biologia na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Łódzkiego

## II. INFORMACJE O ZATRUDNIENIU

**2017 – obecnie (1/4 etatu)**

Adiunkt, Pracownia Gastroimmunologii, Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Uniwersytet Łódzki (1/4 etatu naukowo - dydaktycznego)

**2017 – obecnie**

Starszy specjalista ds. badań przedklinicznych, Evestra Onkologia, Łódź (etat naukowo-badawczy)

**2015 – 2017**

Pracownik badawczo – techniczny specjalista mikrobiolog (1/2 etatu), Instytut Biologii Medycznej, Polska Akademia Nauk, Łódź (etat naukowo - badawczy)

**2011 - 2014**

Adiunkt, Instytut Biologii Medycznej, Polska Akademia Nauk, Łódź (etat naukowo - badawczy)

**2002 - 2011**

Staż podoktorski - Postdoctoral Research Associate position, Department of Biochemistry, University of Texas Health Science Center, Tyler, TX, USA (stanowisko naukowo - badawcze)

**2001 - 2002**

Adiunkt, Katedra Immunologii, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Łódzki (etat naukowo - dydaktyczny)



1996 – 2001 stacjonarne Studium Doktoranckie Fizjologiczno – Mikrobiologiczne na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Łódzkiego

### III. TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

Wykazanie osiągnięcia wynikającego z art.16 ustawy 2 z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):

**„Zależne od receptorów Fc gamma efekty działania kompleksów IL-8: autoprzeciwciało anti-IL-8 na neutrofile i komórki śródbłonna w zespole niewydolności oddechowej”**

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe stanowi monotematyczny cykl pięciu publikacji naukowych, w tym czterech prac oryginalnych i jednej pracy przeglądowej, których sumaryczny IF podany zgodnie z rokiem ukazania się publikacji wynosi: **21,379**.

Suma punktów MNiSW podana zgodnie z aktualnym ujednoliconym wykazem czasopism punktowanych z dnia 12 grudnia 2016 wynosi: **190**.

Sumaryczna liczba cytowań według Web of Science (WoS) wynosi **118**

### IV. PUBLIKACJE WCHODZĄCE W SKŁAD OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

1/ **Krupa A**, Kato H, Matthay MA, Kurdowska AK. Proinflammatory activity of anti-IL-8 autoantibody:IL-8 complexes in alveolar edema fluid from patients with acute lung injury. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2004 Jun;286(6): L1105-13; **IF<sub>2004</sub> - 4,051; MNiSW – 40; liczba cytowań - 36**

2/ Fudala R, **Krupa A**, Matthay MA, Allen TC, Kurdowska AK. Anti-IL-8 autoantibody:IL-8 immune complexes suppress spontaneous apoptosis of neutrophils. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2007 Aug;293(2): L364-74; **IF<sub>2007</sub> - 4,214; MNiSW – 40; liczba cytowań - 26**

3/ **Krupa A**, Fudala R, Stankowska D, Loyd T, Allen TC, Matthay MA, Gryczynski Z, Gryczynski I, Mettikolla YV, Kurdowska AK. Anti-chemokine autoantibody:chemokine immune complexes activate endothelial cells via IgG receptors. Am J Respir Cell Mol Biol. 2009 Aug;41(2):155-69; **IF<sub>2009</sub> - 4,319; MNiSW – 35; liczba cytowań - 13**



4/ **Krupa A**, Walencka MJ, Shrivastava V, Loyd T, Fudala R, Frevert CW, Martin TR, Kurdowska AK. Anti-KC autoantibody:KC complexes cause severe lung inflammation in mice via IgG receptors. Am J Respir Cell Mol Biol. 2007 Nov;37(5):532-43; **IF - 4,608; MNiSW – 35; liczba cytowań - 13**

5/ Fudala R, **Krupa A**, Stankowska D, Allen TC, Kurdowska AK. Anti-interleukin-8 autoantibody: interleukin-8 immune complexes in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome. Clin Sci (Lond). 2008 Mar;114(6):403-412 (review); **IF<sub>2008</sub> - 4,187; MNiSW – 40; liczba cytowań - 30**

**Sumaryczny Impact Factor = 21.379**

**Suma punktów MNiSW = 190**

**Sumaryczna liczba cytowań według Web of Science wynosi 118**

## **V. OMÓWIENIE OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO PRZEDŁOŻONEGO DO OCENY**

### **1. Wprowadzenie**

Chemokiny to białka o niskich masach cząsteczkowych spełniające funkcje chemoatraktantów. Są podzielone na cztery grupy: CXC (chemokiny  $\alpha$ ), CC (chemokiny  $\beta$ ), XC (chemokiny  $\gamma$ ) i CX<sub>3</sub>C (chemokiny  $\delta$ ), wyłonione w oparciu o wzajemne ułożenie względem siebie par cysteinowych [1-3]. IL-8 należy do rodziny CXC chemokin i jest produkowana przez różne typy komórek, w tym: monocyty, makrofagi, limfocyty T, czy komórki śródbłonkowe [2]. IL-8 uważana jest za główny czynnik chemotaktyczny odpowiedzialny za przyciąganie neutrofilii do miejsc zakażenia lub uszkodzenia tkanek [1-3]. Reguluje migrację neutrofilii przez śródbłonek naczyń i płucny i ich aktywację prowadzącą do wydzielania enzymów (degranulacji) i aktywnych form tlenu (wybuch tlenowy) [1, 2]. Ponieważ zwiększony napływ neutrofilii do przestrzeni płucnych jest jednym z najistotniejszych markerów stanu zapalnego w płucach, rola IL-8 w schorzeniach płuc jest uznawana za kluczową [2].

W układzie odpornościowym organizmu znane są różne systemy regulacji aktywności cytokin. Wśród nich można wyróżnić występowanie w organizmie receptorów antagonistycznych [4] oraz rozpuszczalnych receptorów dla cytokin [5]. Znana jest również regulacja produkcji cytokin na poziomie transkrypcji [6], czy poprzez neutralizujące autoprzeciwciała [7, 8, 9]. Interesującym okazało się występowanie autoprzeciwciał, przeciwko cytokinom i czynnikom wzrostu, u zdrowych osobników, jednakże stężenia autoprzeciwciał w sytuacji homeostazy organizmu są niskie w porównaniu ze stanami chorobowymi [9]. Sugeruje się, że występowanie autoprzeciwciał przeciwko cytokinom i czynnikom wzrostu, u zdrowych osobników, jest zjawiskiem powszechnym, a ich główną funkcją jest neutralizowanie aktywności cytokin [9, 10]. Przypuszcza się również, że autoprzeciwciała wiążąc się z cytokinami stabilizują je wpływając na wydłużenie czasu ich połowicznego rozpadu [9, 11]. Chociaż w zdrowym organizmie przeciw cytokinowe autoprzeciwciała spełniają funkcję ochronną lub neutralizującą wobec cytokin, coraz częściej rozważa się możliwość ich współdziałania w pogarszaniu stanów zapalnych w organizmie [9]. Obecność w organizmie autoprzeciwciał przeciwko cytokinom zaobserwowano w różnych zespołach chorobowych o charakterze przewlekłym i autoimmunizacyjnym [9]. W oparciu o wieloletnie badania można wyróżnić autoprzeciwciała przeciw cytokinowe powstające podczas chorób zakaźnych (IFN $\gamma$ , IFN $\alpha$ , IL-6, IL-17/22, GM-CSF) lub autoprzeciwciała przeciwko cytokinom i czynnikom wzrostu spełniającym istotną rolę w chorobach o charakterze autoimmunizacyjnym (IL-6, IL-8, IFN $\alpha$ , G-CSF, EPO) [9].

Pierwsze obserwacje dotyczące obecności u ludzi surowicznych autoprzeciwciał przeciwko IL-8 sięgają lat dziewięćdziesiątych ubiegłego wieku. Sylvester L. i wsp. [12, 13] wykazali obecność autoprzeciwciał przeciwko IL-8 i chemokinie MCP-1 w surowicy zdrowych dawców, a także osób traktowanych dożylnie endotoksyną. Autorzy ci jako pierwsi sugerowali, że brak różnic w stężeniu chemokin: IL-8 i MCP-1, w surowicy osób zdrowych lub traktowanych endotoksyną może być wynikiem



ich związania w kompleksach immunologicznych ze swoimi autoprzeciwciałami. W 1996 r. Amiral J. i wsp. [14] wykazali obecność autoprzeciwciał przeciwko IL-8 w plazmie pacjentów z małopłytkowością, natomiast w 1999 r. Peichl P. i wsp. [15] wykazali takie autoprzeciwciała w surowicy pacjentów ze zdiagnozowanym reumatoidalnym zapaleniem stawów.

W latach 1996 – 2002 Kurdowska A. i wsp. [16 - 18] wykazali, że znaczna ilość IL-8 występująca w płynach płucnych od pacjentów z Ostrą Niewydolnością Oddechową (Acute Respiratory Distress Syndrome – ARDS) była związana ze swoistymi autoprzeciwciałami (Ab anti-IL-8) i występowała w postaci kompleksów immunologicznych (Ab anti-IL-8:IL-8), a podwyższone stężenie tych kompleksów korelowało z pogorszeniem stanu zdrowia pacjentów [19]. Zespół Ostrej Niewydolności Oddechowej (ARDS) jest nazywany inaczej „mokrym płucem”, a przyczyn jego powstania upatruje się w bezpośrednich lub pośrednich działaniach czynników uszkadzających (posocznica, zapalenie płuc, aspiracja treści żołądkowej, urazy mechaniczne). ARDS charakteryzuje się stanem zapalnym miąższu płucnego oraz uszkodzeniem bariery pęcherzykowo – włósczkowej. Zaburzenie wymiany gazowej jest konsekwencją napływu płynu wysiękowego do przestrzeni płucnych, a to z kolei jest powodem, dla którego ARDS jest stanem bezpośredniego zagrożenia życia [20]. Badania przeprowadzone przez Kurdowską A. i wsp. [16 - 19], z wykorzystaniem płynów płucnych od pacjentów z ARDS były pionierskie, a obserwacja, że podwyższone stężenie kompleksów immunologicznych złożonych z autoprzeciwciał any-IL-8 i IL-8 koreluje z pogorszeniem stanu zdrowia pacjentów zmieniło sposób patrzenia na zespół ARDS [19].

Przyczyny powstawania autoprzeciwciał przeciwko IL-8 mogą być różne. Jak zaznaczono wcześniej przeciwciała takie mogą mieć charakter przeciwciał naturalnych pełniących ważną rolę fizjologiczną związaną z neutralizacją cytokin lub przedłużaniem czasu ich rozpadu. Jednak źródła takich przeciwciał należy upatrywać także w infekcjach. Jest wysoce prawdopodobne, że przeciwciała takie mogą



powstawać wskutek immunizacji gospodarza peptydami czynników zakaźnych zawierających sekwencje występujące w cząsteczce IL-8. Takie podobieństwo komponentów czynników zakaźnych i gospodarza określa się terminem „mimikra antygenowa” lub „mimikra molekularna”. Jest ona przyczyną rozwoju patologicznej reakcji zapalnej o charakterze autoimmunizacyjnym w następstwie zakażeń wywołanych m.in. przez paciorkowce, gronkowce pałeczki *Helicobacter pylori* czy szczepy *Campylobacter spp.* Przeprowadzona przeze mnie analiza bioinformatyczna [GeneBank – Pubmed] wskazuje na podobieństwo sekwencji ludzkiej IL-8 i czynników wirulencji patogenów wywołujących zapalenie płuc i uznawanych za główne czynniki zakaźne prowadzące do rozwoju ARDS m.in. *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Chlamydomphila pneumoniae* czy *Mycoplasma pneumoniae* [35]. Zatem w chorobach zapalnych płuc, zwłaszcza o etiologii bakteryjnej należy rozważać udział kompleksów immunologicznych zawierających przeciwciała przeciwko IL-8 i IL-8 w nasileniu objawów choroby.

W latach 2002-2011 przebywałam na stażu naukowym w zespole Prof. Anny Kurdowskiej w University of Texas Health Science Center, Tyler, TX, USA, podczas którego zostałam włączona w badania dotyczące udziału IL-8 w chorobach płucnych. Wiodącym tematem badawczym prowadzonym w zespole Prof. Kurdowskiej była ocena roli autoprzeciwciał anti-IL-8 w połączeniu z IL-8 jako czynnika o potencjalnym działaniu prozapalnym wyrażającym się aktywacją neutrofilii.

*Założono hipotezę, że autoprzeciwciała anti-IL-8 związane z IL-8 mogą modulować aktywność komórek dominujących w rozwoju reakcji zapalnej, takich jak neutrofile, reprezentujące komórki immunokompetentne oraz komórki śródbłonna naczyniowego.*

#### **Publikacja nr 1.**

**Tytuł w języku angielskim: “Proinflammatory activity of anti-IL-8 autoantibody:IL-8 complexes in alveolar edema fluid from patients with acute lung injury”**

**Tytuł w języku polskim: “Aktywność prozapalna kompleksów Ab anti-IL-8: IL-8 występujących w płynach płucnych od pacjentów z Ostrą Niewydolnością Oddechową”**

**Celem pracy było sprawdzenie immunomodulacyjnego działania autoprzeciwciał anti-IL-8 związanych z IL-8 na neutrofile.**

Neutrofile to komórki stanowiące od 40 do 60% wszystkich komórek w populacji białych ciałek krwi. Spełniają one funkcje profesjonalnych fagocytów, które pojawiają się w miejscach wnikania mikroorganizmów jako pierwsza linia obrony makroorganizmu lub w miejscu uszkodzenia tkanek wskutek działania niezakaźnych czynników egzogennych lub endogennych [21]. Komórki te migrują do źródła zakażenia pod wpływem działania cytokin, w tym chemokin oraz produktów bakteryjnych. Na miejscu ulegają aktywacji, w wyniku której wydzielają enzymy (mieloperoksydazę - MPO, elastazę, metaloproteinazy - MMP), leukotrieny, prostaglandyny, cytokiny, chemokiny oraz uwalniają aktywne formy tlenu [21]. IL-8 uważana jest za jeden z najbardziej istotnych czynników chemotaktycznych stymulujących migrację neutrofilii do miejsc zakażenia [1-3]. Badania przeprowadzone przez zespół dr. Anny Kurdowskiej wykazały po raz pierwszy, że chemokina ta występuje w wysokich stężeniach w płynach płucnych pacjentów z zespołem ARDS, głównie w formie związanej ze swoistym autoprzeciwciałem tworząc kompleks immunologiczny Ab anti-IL-8:IL-8 [19]. Charakterystyka kompleksów Ab anti-IL-8:IL-8 wykazała, że są one rozpuszczalne, a w skład pojedynczego kompleksu wchodzi jedna cząsteczka autoprzeciwciała anti-IL-8 klasy IgG i jedna cząsteczka chemokiny IL-8 [19]. W badaniach przeprowadzonych w ramach tematyki osiągnięcia kompleksy Ab anti-IL-8:IL-8 zostały oczyszczone z próbek klinicznych pacjentów (plazma i płyny płucne) z ARDS, a granulocyty wyizolowano z krwi obwodowej. Wykazano, że autoprzeciwciała Ab anti-IL-8 związane z IL-8 posiadały właściwości chemotaktyczne samej IL-8 i aktywowały neutrofile (wybuch tlenowy i wydzielanie



mieloperoksydazy - MPO) na poziomie zbliżonym do wolnej IL-8. Badane kompleksy nie zawierały wolnej IL-8, a ich właściwości stymulacyjne wobec neutrofilii były zależne od ich stężenia. Z eksperymentów przeprowadzonych z zastosowaniem fragmentów F(ab)<sub>2</sub> przeciwciał blokujących receptory dla fragmentu Fc dla immunoglobulin klasy IgG (receptory FcγRIIa i FcγRIII) wynikało, że receptorem zaangażowanym w proces aktywacji neutrofilii przez kompleksy immunologiczne Ab anti-IL-8:IL-8 IL-8 były receptory aktywujące FcγRIIa. Zablockowanie tych receptorów na neutrofilach spowodowało statystycznie znamienne zahamowanie chemotaksji i degranulacji tych komórek. Zaobserwowano, także że zablockowanie receptorów dla IL-8 (CXCR1 oraz CXCR2) nie wpłynęło na zmianę aktywności neutrofilii. Wyniki te pozwalają sugerować, że receptorami zaangażowanymi w przekazywanie sygnału aktywującego neutrofile, w wyniku stymulacji kompleksami Ab anti-IL-8:IL-8, są receptory FcγRIIa.

W literaturze znane są badania wpływu kompleksów immunologicznych na funkcje immunologiczne neutrofilii. Fossati G. i wsp. [22] użyli przygotowane *in vitro* rozpuszczalne i nierozpuszczalne kompleksy immunologiczne, zawierające królicze przeciwciała przeciwko ludzkiej albuminie i białko ludzkiej albuminy (Ab anti-HSA: HSA; HSA – Human Serum Albumin), żeby wykazać różnice w mechanizmach aktywacji ludzkich neutrofilii. Zastosowany przez tych autorów model badawczy miał na celu odzwierciedlenie sytuacji klinicznej pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów, u których występuje cała gama kompleksów immunologicznych rozpuszczalnych i nierozpuszczalnych, modulujących funkcje immunologiczne neutrofilii. Fossati G. i wsp. [22], badając wpływ działania kompleksów Ab anti-HSA: HSA na neutrofile, wykazali również rolę receptorów FcγRs w aktywacji tych komórek zarówno przez kompleksy immunologiczne o charakterze rozpuszczalnym jak i nierozpuszczalnym. Wyniki takie uzyskali jednak po wcześniejszej stymulacji komórek czynnikiem GM-



CSF. Uzyskane wyniki potwierdziły, że aktywacja neutrofilii w odpowiedzi na takie kompleksy zachodzi na ścieżce sygnałowej receptorów FcγRs.

W prezentowanym osiągnięciu w dalszych etapach badań analizowano aktywację białek sygnałowych związanych ze szlakiem sygnałowym receptorów FcγRs. Wykazano fosforylację kinaz białkowych z grupy kinaz MAP (Mitogen Activating Protein) oraz kinazy Akt (nazywanej również PKB – Protein kinase B) w neutrofilach, wchodzących w skład tego szlaku, pod wpływem stymulacji kompleksami Ab anty-IL-8:IL-8. Uzyskane wyniki potwierdziły, że aktywacja neutrofilii w odpowiedzi na takie kompleksy zachodzi na ścieżce sygnałowej receptorów FcγRs. Badania dotyczące sygnałów komórkowych inicjowanych w neutrofilach stymulowanych kompleksami immunologicznymi prowadzone były także przez Naucler C. i wsp. [23]. Jednakże przedmiotem badań tych autorów była kinaza białkowa PKC (Protein Kinase C) oraz jej rola w procesie degranulacji neutrofilii, a zastosowane przez autorów kompleksy immunologiczne były agregowanymi immunoglobulinami klasy IgG zaadsorbowanymi na cząstkach sefarozy. Mechanizm stymulacji komórek takimi kompleksami może być inny niż kompleksami rozpuszczalnymi.

**Wniosek końcowy** - uzyskane w pracy wyniki pozwalają sugerować, że autoprzeciwciała anty-IL-8 wiążąc się z IL-8 wykazują funkcje regulacyjne wobec neutrofilii, będące wynikiem aktywacji szlaków sygnałowych zależnych od receptorów FcγRIIa, co może mieć wpływ na przebieg reakcji zapalnych w chorobach płuc.

## **Publikacja nr 2.**

**Tytuł w języku angielskim: “Anti-IL-8 autoantibody:IL-8 immune complexes suppress spontaneous apoptosis of neutrophils”**

**Tytuł w języku polskim: “Kompleksy immunologiczne autoprzeciwciała anti-IL-8: IL-8 hamują spontaniczną apoptozę neutrofilii”**

**Celem pracy była ocena czasu przeżycia neutrofilii traktowanych kompleksami immunologicznymi zawierającymi autoprzeciwciała anti-IL-8 związane z IL-8.**

Neutrofile w stanie zdrowia organizmu pozostają w krążeniu stosunkowo krótko, po czym przechodzą w stan programowanej śmierci zwanej apoptozą [24, 25, 31]. Apoptyczne neutrofile tracą zdolność do migracji i aktywacji, a także zaczynają wykazywać zmiany morfologiczne charakterystyczne dla komórek apoptycznych (obkurczenie cytoplazmy, fragmentacja DNA, pojawianie się ciałek apoptycznych) [24, 25, 31]. Proces apoptozy neutrofilii może być indukowany na poziomie ligacji receptorów: Fas, TRAIL (TRAIL-1 i TRAIL-2 – receptory związane z TNF), receptorów dla czynnika martwicy guzów TNF- $\alpha$  (TNFR-1 i TNFR-2) lub na poziomie wewnątrzkomórkowym (mitochondrialnym) [25, 31]. Programowana śmierć neutrofilii może być też konsekwencją pochłaniania przez nie niektórych mikroorganizmów, w procesie fagocytozy, stymulujących apoptozę komórek żernych [25, 31]. Niezależnie od mechanizmu inicjacji apoptozy, proces ten przebiega w komórce neutrofilowej z udziałem białek z rodziny kaspaz, wśród których kaspazy 8 i 9 pełnią rolę inicjującą apoptozę, a kaspaza 3 rolę efektorową [25]. Ponadto, apoptoza komórek eukariotycznych jest kierowana przez rodzinę białek Bcl-2, wśród których występują białka o działaniu pro-apoptycznym (Bax, Bak, Bid) oraz białka hamujące apoptozę (Bcl-xL, Mcl-1) [24, 25, 31]. Zmiany ilościowe pomiędzy tymi białkami determinują długość życia wszystkich komórek eukariotycznych, w tym również neutrofilii.

Neutrofile są komórkami, które jako pierwsze migrują do miejsca zakażenia. Obecność neutrofilii w przestrzeniach płucnych jest jednym z ważniejszych markerów stanu zapalnego płuc. Ich głównym zadaniem jest eliminacja czynnika zakaźnego na drodze fagocytozy. Proces ten wiąże się z aktywacją



komórek żernych. Zbyt silna aktywacja skutkuje jednak degranulacją fagocytów i uwolnieniem enzymów oraz reaktywnych form tlenu do środowiska. Enzymy, reaktywne formy tlenu, uwalniane z aktywnych neutrofilii przerywają ciągłość bariery pęcherzykowo - włóściwkowej i w znacznym stopniu uszkadzają tkanki, dlatego też przedłużenie życia granulocytów może skutkować nasileniem stanu zapalnego i pogorszeniem ogólnego stanu zdrowia organizmu [20]. Skuteczne usuwanie aktywowanych neutrofilii z miejsca stanu zapalnego odgrywa niezwykle ważną rolę w utrzymaniu równowagi immunologicznej. Wśród czynników, które modulują czas życia neutrofilii wyróżniamy: cytokiny (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-15, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ), czynniki wzrostu (GM-CSF, G-CSF), bakteryjny lipopolisacharyd (LPS), czy kompleksy immunologiczne [24-26]. Zahamowanie procesu apoptozy neutrofilii, skutkujące przedłużeniem czasu życia tych komórek jest zjawiskiem powszechnym w różnych zespołach chorobowych z towarzyszącą reakcją zapalną [25].

W doświadczeniach wykonanych w prezentowanej pracy (Publikacja 2) zastosowano kompleksy immunologiczne Ab anti-IL-8:IL-8 oczyszczone z plazmy zdrowych wolontariuszy i z płynów płucnych pacjentów z ARDS. Na podstawie zmian morfologicznych neutrofilii, fragmentacji DNA oraz aktywności kaspazy 3 i kaspazy 9 wykazano, że autoprzeciwciała anti-IL-8 związane z IL-8 hamują spontaniczną apoptozę neutrofilii izolowanych z pełnej krwi. Z badań wynika, że receptorami zaangażowanymi bezpośrednio w regulację procesu apoptozy neutrofilii są receptory Fc $\gamma$ RIIa. Zastosowanie fragmentów F(ab)<sub>2</sub> przeciwciał, specyficznie blokujących te receptory, doprowadziło do zniesienia efektu hamowania procesu apoptozy neutrofilii i tym samym przywrócenia normalnej długości życia tych komórek. Uzyskane wyniki są zgodne z obserwacjami Gamberale'a R. i wsp. [26], którzy oceniali wpływ kompleksów immunologicznych na przebieg procesu apoptozy neutrofilii. Autorzy ci zastosowali kompleksy nierozpuszczalne (erytrocyty opłaszczane immunoglobulinami klasy IgG) lub kompleksy rozpuszczalne (agregowane IgG lub kompleksy zawierające owoalbuminę - OVA i przeciwciała przeciwko temu białku).



Wykazano, że kompleksy nierozpuszczalne stymulowały apoptozę neutrofilii, podczas gdy kompleksy rozpuszczalne opóźniały proces spontanicznej apoptozy granulocytów [26]. Autorzy podkreślili również udział receptorów FcγRIIa w regulacji procesu apoptozy neutrofilii przez kompleksy immunologiczne [26].

W prezentowanej obecnie pracy podjęliśmy się również identyfikacji niektórych białek sygnałowych: pro-apoptycznych i anti-apoptycznych zaangażowanych w proces regulacji apoptozy neutrofilii przez kompleksy immunologiczne Ab anti-IL-8:IL-8 [24, 25, 31]. Zaobserwowaliśmy, że poziom białek anti-apoptycznych Bcl-XL wzrastał w neutrofilach pod wpływem stymulacji kompleksami Ab anti-IL-8:IL-8, podczas gdy ekspresja białek pro-apoptycznych: Bak, Bax znamienne zmniejszała się. Ponadto wykazano, że regulacja procesu apoptozy w neutrofilach, pod wpływem takich kompleksów immunologicznych była zależna od aktywacji/fosforylacji kinaz białkowych: Src i Syk. Obie kinazy białkowe są ściśle związane z szlakiem sygnałowym receptora FcγRIIa. Należy wspomnieć, że badania udziału obu kinaz białkowych w regulacji procesu apoptozy neutrofilii, pod wpływem działania kompleksów immunologicznych, są pionierskie.

Pierwsze doniesienia na temat udziału IL-8 w regulacji procesu apoptozy leukocytów sięgają lat 1998-2000 [27, 28], a autorzy badali wpływ IL-8 na apoptozę leukocytów wywołaną stresem oksydacyjnym. Jednakże udział IL-8, związanej ze swoim autoprzeciwciałem w formie kompleksu immunologicznego, w regulacji procesu apoptozy neutrofilii nie był wcześniej rozważany.

**Wniosek końcowy** – Wyniki uzyskane w publikacji nr 2 wskazują na hamowanie procesu apoptozy neutrofilii przez autoprzeciwciała anti-IL-8 związane z IL-8, co pozwala rozważyć rolę IL-8 występującej w takiej formie jako regulatora procesu apoptozy granulocytów w chorobach o podłożu zapalnym m in. ARDS.

**Publikacje nr 3**

**Tytuł w języku angielskim: “Anti-chemokine autoantibody: chemokine immune complexes activate endothelial cells via IgG receptors”**

**Tytuł w języku polskim: “Kompleksy immunologiczne Ab anti-chemokina: chemokina aktywują komórki śródbłonka poprzez receptory dla przeciwciał IgG”**

**Publikacja nr 4**

**Tytuł w języku angielskim: “Anti-KC autoantibody: KC complexes cause severe lung inflammation in mice via IgG receptors”**

**Tytuł w języku polskim: “Kompleksy Ab anti-KC: KC wywołujące ostry stan zapalny w płucach myszy na drodze zależnej od receptorów dla przeciwciał IgG”**

**Celem publikacji nr 3 była ocena zdolności kompleksów immunologicznych Ab anti-IL-8:IL-8 do immunomodulacji aktywacji komórek śródbłonka naczyniowego (model *in vitro*)**

**Celem publikacji nr 4 była ocena roli kompleksów immunologicznych Ab anti-chemokina: chemokina w rozwoju stanu zapalnego w płucach (model *in vivo*), ze zwróceniem uwagi na stan aktywacji śródbłonka naczyniowego**

Płuczny śródbłonek naczyniowy, ze względu na swoją lokalizację, spełnia niezwykle istotną rolę w utrzymywaniu tzw. „równowagi płucnej”, która oznacza swobodną wymianę gazową i hamowanie przedostawania się z naczyń do przestrzeni płucnych makromolekuł oraz elementów morfotycznych krwi [29, 30]. W sytuacji naruszenia ciągłości śródbłonka płucnego, na drodze mechanicznej lub przez czynniki chemiczne czy biologiczne, może dojść do rozwoju ARDS [30]. Zespół ARDS charakteryzuje się stanem zapalnym miąższu płucnego oraz uszkodzeniem bariery śródbłonkowej, czego następstwem jest

pojawianie się w przestrzeniach płucnych płynu wysiękowego bogatego w granulocyty, erytrocyty i wysokocząsteczkowe rozpuszczalne komponenty układu odpornościowego [20]. Utrata ciągłości bariery śródbłonkowej jest konsekwencją aktywacji / uszkodzenia komórek śródbłonka płucnego [14, 29, 30]. Jedną z ważniejszych funkcji prozapalnych komórek śródbłonka jest produkcja IL-8 [29]. IL-8 u pacjentów z zespołem ARDS występuje w głównej mierze w postaci związanej ze swoistym autoprzeciwciałem anti-IL-8, tworząc kompleksy immunologiczne Ab anti-IL-8:IL-8 [19]. Obecność tych kompleksów w wysokich stężeniach, zarówno w plazmie jak i płynach płucnych pacjentów z ARDS sprawia, że mogą one oddziaływać z różnymi komórkami w organizmie, modulując ich aktywność immunologiczną. Wyniki badań przedstawione w Publikacjach nr 1 i 2 wskazują, że kompleksy immunologiczne Ab anti-IL-8: IL-8 modulują funkcje immunologiczne neutrofilii na drodze zależnej od receptorów FcγR oraz modyfikują proces apoptozy tych komórek.

Kompleksy immunologiczne Ab anti-IL-8:IL-8 użyte do doświadczeń przeprowadzonych w publikacji nr 3 pozyskiwane były z próbek klinicznych (plazma i płyny płucne) od pacjentów z ARDS, z plazmy zdrowych osobników lub zostały przygotowane *in vitro*. Badania przeprowadzono na ludzkich komórkach śródbłonka naczyniowego żyły pępowinowej - HUVEC. W pierwszej fazie pracy badano zdolność komórek śródbłonka do wiązania kompleksów Ab anti-IL-8:IL-8, a następnie analizowano mechanizmy aktywacyjne zachodzące w tych komórkach w wyniku stymulacji takimi kompleksami. Uzyskane wyniki wskazują na wiązanie kompleksów Ab anti-IL-8:IL-8 z komórkami śródbłonka poprzez receptory FcγRIIa. Wykazano również, że następstwem tego było inicjowanie w komórkach HUVEC aktywacji ścieżki sygnałowej z udziałem takich receptorów. Stymulacja komórek śródbłonka kompleksami immunologicznymi Ab anti-IL-8:IL-8 prowadziła do fosforylacji białek sygnałowych: Syk, ERK, JNK, Akt ze szlaku receptora FcγRIIa, a w dalszych etapach do aktywacji czynnika transkrypcyjnego NFκB wyrażającą się translokacją podjednostki p65 do jądra komórki. Konsekwencją



aktywacji komórek śródbłonna było nasilenie ekspresji cząsteczek adhezyjnych ICAM-1, które determinują przyleganie neutrofilów do śródbłonna [30]. Wykazaliśmy, że stymulacja komórek HUVEC kompleksami Ab anti-IL-8: IL-8 skutkuje nasileniem adhezji neutrofilów do komórek śródbłonna.

Zjawisko występowania kompleksów immunologicznych w organizmie, a zwłaszcza osadzanie się ich w tkankach, było często opisywane w kontekście chorób o podłożu autoimmunizacyjnym (glomerulonefritis, SLE, arthritis) lub w zespołach chorobowych będących konsekwencją formowania się kompleksów w organizmie pod wpływem obcych antygenów (zespół poprzetoczeniowy, odrzucanie przeszczepu, zakażenia mikrobiologiczne) [32]. Autorzy tych badań różnicowali mechanizmy działania kompleksów nierozpuszczalnych i rozpuszczalnych w organizmie. Interesujące jest, że duże agregaty i kompleksy nierozpuszczalne, w których składzie występują przeciwciała klasy IgM, są usuwane dość szybko z organizmu w wątrobie czy śledzionie, natomiast kompleksy rozpuszczalne, zawierające cząsteczki IgG, przedostają się z krążeniem do tkanek, gdzie osadzają się, a następnie aktywują różne populacje komórek [32]. Zdeponowane w tkankach kompleksy immunologiczne mogą nasilać reakcje zapalną poprzez aktywację dopełniacza na drodze klasycznej. Należy nadmienić, że analizowane przez nas kompleksy immunologiczne Ab anti-IL-8:IL-8 mają charakter rozpuszczalny, a badania nad ich rolą w kontekście stanu zapalnego w płucach prowadzone przez zespół Prof. Anna Kurdowskiej są pionierskie. Poprzez mikroskopową analizę tkanki płucnej pacjentów z ARDS wykazaliśmy podwyższoną ekspresję receptorów aktywujących FcγRIIa na komórkach śródbłonna oraz depozycję kompleksów Ab anti-IL-8:IL-8 na tych komórkach zależną od receptorów FcγRIIa. Ponadto, wykazaliśmy nasiloną ekspresję cząsteczek adhezyjnych ICAM-1 na komórkach CD34 pozytywnych (marker komórek śródbłonna) [31].

Do oceny roli kompleksów immunologicznych Ab anti-chemokina: chemokina w rozwoju stanu zapalnego w płucach i ich immunomodulacyjnych właściwości względem komórek śródbłonna płucnego *in vivo*, wykorzystaliśmy myszy model, który zaprojektowano w zespole Prof. Anny Kurdowskiej w taki

sposób, żeby odzwierciedlał przebieg procesów zapalnych zachodzących u pacjentów z ARDS (**Publikacja nr 4**). Należy wspomnieć, że myszy nie posiadają IL-8, a jej funkcjonalnym odpowiednikiem jest CXCL1/KC (chemokine (C-X-C motif) ligand 1/Keratinocyte chemoattractant) [33]. Eksperyment przeprowadzono w taki sposób, żeby w pierwszej fazie wywołać u zwierząt produkcję autoprzeciwciał anti-KC, a następnie doprowadzić do powstania kompleksów immunologicznych Ab anti-KC: KC specyficznie w obszarze płucnym (myszy szczepu dzikiego BALB/c, grupa KC/KC). Zwierzęta stanowiące grupy kontrolne stymulowaliśmy do produkcji wyłącznie autoprzeciwciał anti-KC lub podawaliśmy im jedynie wolny KC. Po 14 godzinach od powstania kompleksów immunologicznych oceniano stan zapalny w płucach myszy. Analiza płynów płucnych wykazała, że wśród komórek zapalnych 70-80% stanowiły neutrofile. Wykazano także podwyższone stężenie mieloperoksydazy (MPO - myeloperoxidase), uznawanej za marker aktywacji neutrofilii. Wśród komórek gromadzących się w wysięku płucnym zwierząt, wytwarzających przeciwciała lub otrzymujących KC w celu utworzenia kompleksów, zaobserwowano zwiększony odsetek erytrocytów, w porównaniu do zwierząt kontrolnych. co mogło świadczyć o uszkodzeniu śródbłonka naczyniowego i zaburzeniu przepuszczalności bariery pęcherzykowo – włóscinkowej. O uszkodzeniu tej bariery świadczyła również obecność w płynach płucnych myszy albuminy. Ponadto stan zapalny/uszkodzenie płuc myszy zostały ocenione w badaniu histopatologicznym tkanki płucnej i przedstawione jako współczynnik stopnia uszkodzenia płuc - Lung Injury Score (LIS).

W celu potwierdzenia roli receptorów Fc $\gamma$ R w rozwoju stanu zapalnego wywołanego kompleksami Ab anti-KC: KC zastosowaliśmy model myszy z delecją genów kodujących czynnik warunkujący ekspresję łańcucha ciężkiego  $\gamma$  w receptorach Fc. Z uzyskanych danych wynika, że brak receptorów Fc $\gamma$ Rs u myszy nokautowych w zakresie łańcucha  $\gamma$  receptora Fc chronił zwierzęta przed rozwojem stanu zapalnego w płucach wywołanego kompleksami Ab anti-KC: KC. Efekt ochronny przejawiał się



statystycznie znamionym obniżeniem liczby neutrofilii napływających do płuc oraz bardzo niskim stężeniem MPO wydzielanej do płynu płucnego w porównaniu z myszami szczepu dzikiego – grupa KC/KC. Co więcej, wyliczony współczynnik LIS wskazywał na brak uszkodzenia płuc u myszy nokautowych (brak łańcucha  $\gamma$  - grupa zwierząt KC/KC), a tkanka płucna tych zwierząt nie odbiegała pod względem histologicznym od tkanki myszy kontrolnych. Ponadto, w płucach myszy nokautowych nie obserwowano depozycji kompleksów anty-KC: KC oraz aktywacji białek sygnałowych: p38, ERK oraz Akt.

Stosując mikroskopię konfokalną oceniano aktywację komórek śródbłonka płuc myszy KC/KC. Wykazano fosforylację kinazy białkowej Syk ze szlaku receptora Fc $\gamma$ R oraz podwyższoną ekspresję cząsteczki adhezyjnej ICAM-1. W komórkach śródbłonkowych myszy nokautowych bez łańcucha  $\gamma$  receptora Fc nie wykazano aktywacji kinazy białkowej Syk, co pozwoliło wnioskować, że stymulacja śródbłonka płucnego w odpowiedzi na badane kompleksy immunologiczne była zależna od receptora Fc $\gamma$ R (**Publikacja nr 3 i 4**).

Uszkodzenie tkanek w chorobach wywołanych działaniem kompleksów immunologicznych jest w większości przypadków konsekwencją aktywacji neutrofilii [32], jednakże neutrofile to nie jedyne komórki ulegające aktywacji. Komórki śródbłonka w wyniku stymulacji kompleksami immunologicznymi syntetyzują cytokiny (IL-1, IL-6, IL-8) i wydzielają enzymy proteolityczne, a powierzchniowe cząsteczki adhezyjne, których ekspresja nasila się regulują proces przylegania neutrofilii do śródbłonka [34]. Problem uszkodzenia śródbłonka płucnego jest jednym z najistotniejszych w patogenezie ARDS [29], dlatego należy oczekiwać, iż poznanie przyczyn aktywacji śródbłonka płucnego i mechanizmów jego uszkodzenia w tej chorobie pozwoli opracować metody regeneracji tej bariery komórkowej. Należy również podkreślić, iż wcześniejsza ekspozycja na czynnik zakaźny może sprzyjać depozycji kompleksów immunologicznych w śródbłonku naczyniowym i potęgować ich prozapalne



działanie. Taki efekt nasilonej depozycji kompleksów immunologicznych wykazano w niniejszej pracy (**Publikacja nr 4**) u myszy otrzymujących dootrzewnowo LPS *E. coli* O111:B4, co korelowało z nasiloną infiltracją neutrofilii i ich aktywacją.

**Wniosek końcowy** – uzyskane w pracy wyniki badań wykonanych na modelu zwierzęcym *in vivo* potwierdziły rolę kompleksów Ab anti-IL-8: IL-8 w regulacji aktywacji komórek śródbłonka. Wykazano rolę receptorów Fcγ w modulowaniu aktywacji śródbłonka płucnego stymulowanego kompleksami immunologicznymi Ab anti-KC: KC. Wcześniejsza ekspozycja gospodarza na czynnik zakaźny może sprzyjać depozycji kompleksów immunologicznych w śródbłonku naczyniowym i nasileniu reakcji zapalnej.

#### **Publikacja nr 5 (praca przeglądowa)**

**Tytuł w języku angielskim: “Anti-interleukin-8 autoantibody: interleukin-8 immune complexes in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome”**

**Tytuł w języku polski: “Kompleksy immunologiczne Ab anti-IL-8: IL-8 w Zespole Ostrej Niewydolności Oddechowej”**

**Cel: Celem publikacji nr 5 był przegląd wiedzy dotyczącej roli kompleksów Ab anti-IL8: IL-8 w Zespole Ostrej Niewydolności Oddechowej z towarzyszącym uszkodzeniem tkanki płucnej, w kontekście własnych wyników badań. Praca stanowi ich podsumowanie.**

Wyniki badań własnych uzyskanych w zespole Prof. Anny Kurdowskiej przedstawiono w tej pracy w odniesieniu do badań klinicznych. Analiza prób klinicznych od pacjentów z zespołem ARDS i pacjentów z grup ryzyka wykazała, że IL-8 występuje ze swoistym autoprzeciwciałem (anti-IL-8) w

postaci kompleksu immunologicznego Ab anti-IL-8:IL-8. Obecność tych kompleksów w dużych stężeniach korelowała ze śmiertelnością pacjentów z ARDS [19].

Na tym tle w badaniach własnych wykazano, że:

- 1/ Autoprzeciwciała anti-IL-8 w kompleksie z IL-8 wykazują zdolność aktywacji neutrofilów oraz modulacji procesu apoptozy tych komórek, powodując wydłużenie ich czasu przeżycia
- 2/ Autoprzeciwciała anti-IL-8 związane z IL-8 aktywują komórki śródbłonkowe, czego efektem jest nasilenie ekspresji cząsteczki adhezyjnej ICAM-1, a w konsekwencji zwiększenie adhezji neutrofilów do śródbłonka
- 3/ W oddziaływaniach kompleksów Ab anti-IL-8:IL-8 z neutrofilami i komórkami śródbłonkowymi pośredniczą receptory aktywujące FcγRIIa
- 4/ Kompleksy immunologiczne zawierające autoprzeciwciała przeciwko IL-8 i IL-8 odgrywają istotną rolę w inicjowaniu/utrwalaniu stanu zapalnego w płucach, za pośrednictwem receptorów FcγRIIa
- 5/ Narażenie na czynniki zakaźne może nasilać prozapalne działanie badanych kompleksów

## 2. LITERATURA

- 1/ Mukaida N. Pathophysiological roles of interleukin-8/CXCL8 in pulmonary diseases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2003 Apr;284(4): L566-77, (Invited Review).
- 2/ Russo RC, Garcia CC, Teixeira MM, Amaral FA. The CXCL8/IL-8 chemokine family and its receptors in inflammatory diseases. *Expert Rev Clin Immunol.* 2014 May;10(5):593-619. doi: 10.1586/1744666X.2014.894886. Epub 2014 Mar 29, (Review).
- 3/ Zlotnik A, Yoshie O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity.* 2000 Feb;12(2):121-7, (Review).
- 4/ Peters VA, Joesting JJ, Freund GG. IL-1 receptor 2 (IL-1R2) and its role in immune regulation. *Brain Behav Immun.* 2013 Aug;32: 1-8. doi: 10.1016/j.bbi.2012.11.006. Epub 2012 Nov 27.
- 5/ Jones SA, Rose-John S. The role of soluble receptors in cytokine biology: the agonistic properties of the sIL-6R/IL-6 complex. *Biochim Biophys Acta.* 2002 Nov 11;1592(3):251-63.
- 6/ Jundi K, Greene CM. Transcription of Interleukin-8: How Altered Regulation Can Affect Cystic Fibrosis Lung Disease. *Biomolecules.* 2015 Jul 1;5(3):1386-98. doi: 10.3390/biom5031386.



- 7/ Browne SK, Holland SM. Anticytokine autoantibodies in infectious diseases: pathogenesis and mechanisms. *Lancet Infect Dis.* 2010 Dec;10(12):875-85. doi: 10.1016/S1473-3099(10)70196-1.
- 8/ Watanabe M, Uchida K, Nakagaki K, Kanazawa H, Trapnell BC, Hoshino Y, Kagamu H, Yoshizawa H, Keicho N, Goto H, Nakata K. Anti-cytokine autoantibodies are ubiquitous in healthy individuals. *FEBS Lett.* 2007 May 15;581(10):2017-21. Epub 2007 Apr 24.
- 9/ Knight V., Merkel P.A., O'Sullivan M.D., Anticytokine Autoantibodies: Association with Infection and Immune Dysregulation. *Antibodies*, 2016; 5(1); 3. (Review)
- 10/ Uchida K, Nakata K, Trapnell BC, Terakawa T, Hamano E, Mikami A, Matsushita I, Seymour JF, Oh-Eda M, Ishige I, Eishi Y, Kitamura T, Yamada Y, Hanaoka K, Keicho N. High-affinity autoantibodies specifically eliminate granulocyte-macrophage colony-stimulating factor activity in the lungs of patients with idiopathic pulmonary alveolar proteinosis. *Blood.* 2004 Feb 1;103(3):1089-98. Epub 2003 Sep 25.
- 11/ Courtney LP, Phelps JL, Karavodin LM. An anti-IL-2 antibody increases serum half-life and improves anti-tumor efficacy of human recombinant interleukin-2. *Immunopharmacology.* 1994 Nov-Dec;28(3):223-32.
- 12/ Sylvester I, Yoshimura T, Sticherling M, Schröder JM, Ceska M, Peichl P, Leonard EJ. Neutrophil attractant protein-1-immunoglobulin G immune complexes and free anti-NAP-1 antibody in normal human serum. *J Clin Invest.* 1992 Aug;90(2):471-81.
- 13/ Sylvester I, Suffredini AF, Boujoukos AJ, Martich GD, Danner RL, Yoshimura T, Leonard EJ. Neutrophil attractant protein-1 and monocyte chemoattractant protein-1 in human serum. Effects of intravenous lipopolysaccharide on free attractants, specific IgG autoantibodies and immune complexes. *J Immunol.* 1993 Sep 15;151(6):3292-8.
- 14/ Amiral J, Marfaing-Koka A, Wolf M, Alessi MC, Tardy B, Boyer-Neumann C, Vissac AM, Fressinaud E, Poncz M, Meyer D. Presence of autoantibodies to interleukin-8 or neutrophil-activating peptide-2 in patients with heparin-associated thrombocytopenia. *Blood.* 1996 Jul 15;88(2):410-6.
- 15/ Peichl P, Pursch E, Bröll H, Lindley IJ. Anti-IL-8 autoantibodies and complexes in rheumatoid arthritis: polyclonal activation in chronic synovial tissue inflammation. *Rheumatol Int.* 1999;18(4):141-5.
- 16/ Kurdowska A, Miller EJ, Noble JM, Baughman RP, Matthay MA, Brelsford WG, Cohen AB. Anti-IL-8 autoantibodies in alveolar fluid from patients with the adult respiratory distress syndrome. *J Immunol.* 1996 Sep 15;157(6):2699-706.
- 17/ Kurdowska A, Noble JM, Steinberg KP, Ruzinski J, Hudson LD, Martin TR. Anti-IL-8 autoantibodies in alveolar fluid from patients at risk for ARDS and with well-defined ARDS. *Chest.* 1999 Jul;116(1 Suppl):9S.
- 18/ Kurdowska A, Noble JM, Grant IS, Robertson CR, Haslett C, Donnelly SC. Anti-interleukin-8 autoantibodies in patients at risk for acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med.* 2002 Oct;30(10):2335-7.
- 19/ Kurdowska A, Noble JM, Steinberg KP, Ruzinski JT, Hudson LD, Martin TR. Anti-interleukin 8 autoantibody: interleukin 8 complexes in the acute respiratory distress syndrome. Relationship between the complexes and clinical disease activity. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001 Feb;163(2):463-8.
- 20/ Ware LB, Matthay MA. The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 2000 May 4;342(18):1334-49.



- 21/ Wright HL, Moots RJ, Bucknall RC, Edwards SW. Neutrophil function in inflammation and inflammatory diseases. *Rheumatology (Oxford)*. 2010 Sep;49(9):1618-31. doi: 10.1093/rheumatology/keq045. Epub 2010 Mar 24.
- 22/ Fossati G, Bucknall RC, Edwards SW. Insoluble and soluble immune complexes activate neutrophils by distinct activation mechanisms: changes in functional responses induced by priming with cytokines. *Ann Rheum Dis*. 2002 Jan;61(1):13-9.
- 23/ Nauclér C, Grinstead S, Sundler R, Tapper H. Signaling to localized degranulation in neutrophils adherent to immune complexes. *J Leukoc Biol*. 2002 Apr;71(4):701-10.
- 24/ Akgül C, Moulding DA, Edwards SW. Molecular control of neutrophil apoptosis. *FEBS Lett*. 2001 Jan 5;487(3):318-22.
- 25/ McCracken JM, Allen LA. Regulation of human neutrophil apoptosis and lifespan in health and disease. *J Cell Death*. 2014 May 8; 7:15-23. doi: 10.4137/JCD.S11038. eCollection 2014.
- 26/ Gamberale R, Giordano M, Trevani AS, Andonegui G, Geffner JR. Modulation of human neutrophil apoptosis by immune complexes. *J Immunol*. 1998 Oct 1;161(7):3666-74.
- 27/ Dunican AL, Leuenroth SJ, Ayala A, Simms HH. CXC chemokine suppression of polymorphonuclear leukocyte apoptosis and preservation of function is oxidative stress independent. *Shock*. 2000 Mar;13(3):244-50.
- 28/ Leuenroth S, Lee C, Grutkoski P, Keeping H, Simms HH. Interleukin-8-induced suppression of polymorphonuclear leukocyte apoptosis is mediated by suppressing CD95 (Fas/Apo-1) Fas-1 interactions. *Surgery*. 1998 Aug;124(2):409-17.
- 29/ Maniatis NA, Orfanos SE. The endothelium in acute lung injury/acute respiratory distress syndrome. *Curr Opin Crit Care*. 2008 Feb;14(1):22-30. doi: 10.1097/MCC.0b013e3282f269b9.
- 30/ Orfanos SE, Mavrommati I, Korovesi I, Roussos C. Pulmonary endothelium in acute lung injury: from basic science to the critically ill. *Intensive Care Med*. 2004 Sep;30(9):1702-14. Epub 2004 Jul 16.
- 31/ Baumhueter S, Dybdal N, Kyle C, Lasky LA. Global vascular expression of murine CD34, a sialomucin-like endothelial ligand for L-selectin. *Blood* 1994;84:2554-2565.
- 32/ Mayadas TN, Tsokos GC, Tsuboi N. Mechanisms of immune complex-mediated neutrophil recruitment and tissue injury. *Circulation*. 2009 Nov 17;120(20):2012-24. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.771170.
- 33/ Bozic CR, Kolakowski LF Jr, Gerard NP, Garcia-Rodriguez C, von Uexkull-Guldenband C, Conklyn MJ, Breslow R, Showell HJ, Gerard C. Expression and biologic characterization of the murine chemokine KC. *J Immunol*. 1995 Jun 1;154(11):6048-57.
- 34/ Frank M.M and Hester C.G., Immune Complexes: Normal Physiology and Role in Disease. *Allergy Frontiers: Classification and Pathomechanism*. 2009, vol 2; 97-112.
- 35/ Umbrello M., Formenti P., Bolgiaghi L., Chiumello D. Current Concepts of ARDS: A Narrative Review. *Int J Mol Sci*. 2017 Jan; 18(1): 64. Published online 2016 Dec 29. doi: 10.3390/ijms18010064.

  
Agnieszka Krupa

29 lipca 2018