

Streszczenie pracy doktorskiej

Wstęp

Astma jest chorobą o globalnym zasięgu, obejmującą ponad 250 milionów chorych w każdym wieku. Stałą cechą astmy jest przewlekłe zapalenie w drogach oddechowych. Drugą cechą astmy jest jej heterogenność wynikająca z licznych endotypów i fenotypów astmy, które mogą się na siebie nakładać i zmieniać przebieg choroby. Fenotyp astmy związanej z otyłością charakteryzuje się zwiększonym ryzykiem zaostrzeń i gorszą odpowiedzią na leczenie wziewnymi glikokortykosteroidami, co powoduje trudności w uzyskaniu kontroli astmy.

Otyłość osiągnęła rozmiary ogólnoświatowej epidemii. Szacuje się, że choroba dotyczy aż około 2,5 miliarda dorosłych. Otyłość może znacząco wpływać na mechanikę oddychania powodując zmniejszenie natężonej pojemności życiowej (FVC), wydechowej objętości rezerwowej (ERV) i natężonej pierwszosekundowej objętości wydechowej (FEV1).

Komórki tkanki tłuszczowej uwalniają bioaktywne substancje, zwane adipokinami, które powodują powstanie tzw. „niskiego stopnia stanu zapalnego” w otyłości. Dwie spośród adipokin, omentyna i waspina, wydają się szczególnie istotne. Wykazano, że ich stężenia w surowicy i tkankach ulegają zmianom w przebiegu różnych chorób o podłożu zapalnym. Wiadomo, że na wytwarzanie omentyny i waspiny mogą mieć wpływ hormony płciowe, natomiast dokładna funkcja i mechanizm ich działania nie zostały jak dotąd poznane. Potencjalnie, omentyna i waspina mogą zmieniać aktywność zapalenia toczącego się w drogach oddechowych w astmie oskrzelowej. Badania dotyczące omentyny u osób chorujących na astmę są bardzo nieliczne, a waspina nie była badana w tej grupie chorych.

Cel pracy

Celem pierwszorzędowym pracy była ocena przydatności omentyny i waspiny jako biomarkerów ciężkości astmy u chorych z nadwagą lub otyłością.

Celami drugorzędowymi było ocenienie, czy w astmie z towarzyszącą nadwagą lub otyłością występuje zależność stężenia omentyny i waspiny:

- 1) od wybranych parametrów antropometrycznych pacjentów z grupy badanej,
- 2) od etiologii astmy,
- 3) od stopnia kontroli astmy,
- 4) od stężenia tlenu azotu w wydychanym powietrzu,

5) od płci.

Material i metody

Badanie przeprowadzono w grupie 71 chorych (40 kobiet, 31 mężczyzn) w wieku 21-89 lat, leczonych w Klinice Chorób Wewnętrznych, Pneumonologii i Alergologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu lub w poradni przyklinicznej.

Kryteria włączenia do badania:

- nadwaga lub otyłość ($BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$), wg WHO
- astma oskrzelowa rozpoznana wg kryteriów GINA 2018,[171] co najmniej 18 miesięcy przed włączeniem do badania,
- leczenie co najmniej II stopnia wg GINA 2018

Kryteria wyłączenia z badania:

- ostre infekcje bakteryjne i wirusowe, w okresie 7 dni przed włączeniem do badania,
- cukrzyca typu 1 lub typu 2, rozpoznana wg zaleceń WHO,
- inne niż astma przewlekłe, niekontrolowane choroby zapalne,
- zaburzenia psychiczne utrudniające współpracę i kontakt z pacjentem,
- kobiety w ciąży lub podczas karmienia piersią.

W grupie badanej (n=71) oceniano:

- BMI, wyodrębniono podgrupy z nadwagą (n=42) i podgrupy z otyłością (n=29), oceniono obwód talii i współczynnik WHR
- skład ciała metodą bioimpedancji elektrycznej (n=46),
- intensywność leczenia farmakologicznego astmy, wg GINA 2018: zakwalifikowano pacjentów do stopnia II (n=5), stopnia III (n=13) i stopnia IV (n=25), stopnia V (n=28) kontroli astmy,
- spirometrię: ze względu na parametr FEV1 pacjentów kwalifikowano na grupę z $FEV1 \geq 70\%$ (n=51) i $FEV1 < 70\%$ (n=20),
- test kontroli astmy (ACT): wyodrębniono grupy z dobrą kontrolą astmy (20-25 punktów) (n=26), częściową kontrolą astmy (16-19 punktów) (n=14), złą kontrolą astmy (5-15 punktów) (n=31),

- eozynofilię obwodową: na podstawie liczby eozynofilów we krwi obwodowej pacjentów (n=51) zakwalifikowano do grupy <150 liczby eozynofilów/mikrolitr krwi obwodowej (n=27), $\geq 150 < 300$ liczby eozynofilów/mikrolitr krwi obwodowej (n=11), ≥ 300 liczby eozynofilów/mikrolitr krwi obwodowej (n=13),
- FeNO, oznaczono w grupie (n=37) badanych z nadwagą lub otyłością, ze względu na wartość FeNO podzielono pacjentów na grupę FeNO <20 ppb (n=18) oraz grupę FeNO ≥ 20 ppb (n=19),
- występowanie atopii: na podstawie analizy wywiadu chorobowego od pacjentów i wyników badań testów prick lub/i alergenowo swoistych IgE w kierunku przynajmniej dwudziestu powszechnych aeroalergenów. Oceniono istotność kliniczną stwierdzanych uczuleń w wywoływaniu objawów astmy. Na tej podstawie podzielono pacjentów na grupę z astmą alergiczną (n=45), niealergiczną (n=26).

Metody statystyczne

W tabelach zbiorczych dane liczbowe podano jako wartości średnie, maksima, minima, liczba prób (n), odchylenie standardowe (SD) oraz mediany. Ocenę prawdopodobieństwa rozkładu zmiennych liczbowych do rozkładu normalnego wykonano przy użyciu testu Kolmogorov-Smirnov. W części zmiennych nie potwierdzono podobieństwa do rozkładu normalnego. Wartości zostały porównane między podanymi grupami przy użyciu testu parametrycznego Pearsona, nieparametrycznego U Manna-Whitney'a oraz testu istotności dla dwóch średnich (*paired t test*). Współzależność pomiędzy zmiennymi oceniono korelacją rang Spearmana. Do analizy statystycznej i przygotowania wykresów wykorzystano oprogramowanie GraphPad Prism 10.02 software (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). Istotność statystyczną ustalono przy wartości $p < 0,05$.

Wyniki

Badaną grupę liczniej reprezentowały kobiety niż mężczyźni, mediana wieku kobiet wynosiła 60 lat, mężczyzn 59 lat. W grupie badanej zaobserwowano istotną statycznie korelację stężenia eozynofilów z FeNO ($r=0,07$, $p<0,0001$).

Omentyna

Nie wykazano istotnych statycznie korelacji pomiędzy stężeniami omentyny w surowicy badanych a wskaźnikiem $25 \leq \text{BMI} < 30$ vs $\text{BMI} \geq 30$ zarówno w całej grupie badanej (n=71) jak

i w podgrupach kobiet (n=40) i mężczyzn (n=31), ani pomiędzy płcią. Mediana stężenia omentyny u kobiet wynosiła 459,65 ng/ml, u mężczyzn 387,89 ng/ml.

Stężenie omentyny było wyższe ($p=0,02$) u kobiet niż u mężczyzn zarówno w grupie astmy alergicznej (481,9 ng/ml *versus* 407,5 ng/ml), jak i niealergicznej (445,8 ng/ml *versus* 375,6 ng/ml), czego nie zaobserwowano w całej grupie badanej.

Stężenie omentyny było wyższe u kobiet niż u mężczyzn zarówno w II-III stopniu leczenia astmy (454,6 ng/ml *versus* 394,8 ng/ml, $p=0,02$) jak i IV-V stopniu leczenia astmy (468,6 ng/ml *versus* 411,9 ng/ml, $p=0,02$).

Nie zaobserwowano różnicy w stężeniu omentyny w surowicy w grupach z różnym stopniem kontroli astmy, ani korelacji stężenia omentyny w surowicy a FEV1% wn., zarówno w całej grupie badanej (n=71) jak i w podgrupie kobiet, ani w podgrupie mężczyzn. Istotną statystycznie dodatnią korelację stężenia omentyny w surowicy a FeNO wykazano w podgrupie mężczyzn ($r=0,54$, $p=0,034$).

Waspina

Nie wykazano istotnych statystycznie korelacji pomiędzy stężeniem waspiny w surowicy badanych a wskaźnikiem $25 \leq \text{BMI} < 30$ *versus* $\text{BMI} \geq 30$ w grupie badanej (n=49) jak w podgrupie kobiet (n=28) i podgrupie mężczyzn (n=21), ani pomiędzy płcią. Mediana stężenia waspiny u kobiet wynosiła 0,18 ng/ml, u mężczyzn 0,16 ng/ml.

Wykazano istotne statystycznie niższe stężenia waspiny w surowicy w astmie niealergicznej niż alergicznej w podgrupie mężczyzn (n=21, $p=0,04$), natomiast nie stwierdzono takiej zależności w podgrupie kobiet (n=28).

Stwierdzono istotne statystycznie niższe stężenie waspiny w surowicy u kobiet z astmą na IV-V stopniu leczenia w porównaniu do kobiet z astmą na II-III stopniu leczenia ($p=0,0365$).

W grupie badanej (n=49) nie stwierdzono statystycznie istotnej różnicy w stężeniu waspiny w surowicy pomiędzy chorymi z astmą częściowo i źle kontrolowaną (ACT < 20) oraz z astmą dobrze kontrolowaną (ACT \geq 20). Natomiast wykazano istotną statystycznie różnicę w stężeniu waspiny w surowicy pomiędzy podgrupami kobiet i mężczyzn z astmą częściowo i źle kontrolowaną a z astmą dobrze kontrolowaną.

Zaobserwowano istotną statystycznie dodatnią korelację pomiędzy stężeniem waspiny w surowicy a FeNO w podgrupie mężczyzn ($r=0,32$, $p=0,039$).

Wnioski

1. U chorych z nadwagą lub otyłością chorujących na astmę alergiczną lub niealergiczną wykazano istotnie statycznie wyższe stężenie omentyny u kobiet niż u mężczyzn, a także wyższe stężenie omentyny u kobiet niż u mężczyzn w podgrupach leczonych na stopniu intensywności II-III i IV-V, wg GINA.
2. U kobiet z nadwagą lub otyłością chorujących na astmę wykazano istotnie statycznie wyższe stężenie waspiny w podgrupie leczonych na stopniu intensywności II-III, wg GINA w porównaniu z podgrupą leczonych na stopniu intensywności IV-V, wg GINA. Natomiast u mężczyzn z nadwagą lub otyłością chorujących na astmę statycznie istotnie wyższe stężenie waspiny wykazano u chorujących na astmę alergiczną niż astmę niealergiczną.
3. Wykazano dodatnią korelację pomiędzy stężeniem zarówno omentyny jak również waspiny a FeNO w podgrupie mężczyzn.
4. Nie wykazano związku stężenia w surowicy omentyny i waspiny ze wskaźnikiem BMI, z endotypem alergicznym i niealergicznym astmy ani ze stopniem kontroli astmy i intensywności jej leczenia w całej badanej grupie.
5. Ponieważ stężenia omentyny i waspiny statystycznie istotnie różniły się w badanych grupach kobiet i mężczyzn, wydaje się, że hormony płciowe mogą mieć wpływ na aktywność obu tych adipokin u chorych z nadwagą lub otyłością chorujących na astmę.

Summary

Introduction

Asthma is a global disease affecting over 250 million people of all ages. An even feature of asthma is chronic inflammation in the airways. Another asthma feature is its heterogeneity resulting from numerous asthma endotypes and phenotypes, which may overlap and change the course of the disease. The obesity-associated asthma phenotype is characterized by an increased risk of exacerbations and a worse response to treatment with inhaled glucocorticoids, which makes it difficult to achieve asthma control.

Obesity has reached global epidemic proportions. It is estimated that the disease affects approximately 2.5 billion adults. Obesity can significantly impact breathing mechanics, resulting in reduced forced vital capacity (FVC), expiratory reserve volume (ERV), and forced expiratory volume in one second (FEV1).

Adipose tissue cells release bioactive substances called adipokines, which result in the so-called “low-grade inflammation” in obesity. Two of the adipokines, omentin and vaspin, appear to be particularly important. It has been shown that their concentrations in serum and tissues change in various inflammatory diseases. It is known that the production of omentin and vaspin can be influenced by sex hormones, but their exact function and mechanism of action have not yet been elucidated. Potentially, omentin and vaspin may change the activity of inflammation in the airways in bronchial asthma. There are very few studies on omentin in people with asthma, and vaspin has not been studied in this group of patients.

Aim of the study

The primary aim of the study was to evaluate the usefulness of omentin and vaspin as biomarkers of asthma severity in overweight or obese patients.

The secondary aim of the study were to evaluate whether omentin and vaspin concentrations are dependent in asthma with associated overweight or obesity:

- 1) on selected anthropometric parameters of patients in the study group,
- 2) on the etiology of asthma,
- 3) on the degree of asthma control,
- 4) on the concentration of nitric oxide in exhaled air,
- 5) on gender.

Material and methods

The study was conducted in a group of 71 asthmatic patients (40 women, 31 men), aged 21-89 years, treated at the Department of Internal Medicine, Pneumonology and Allergology of the Medical University of Wroclaw or at the outpatient clinic.

Inclusion criteria for the study:

- overweight or obese (BMI ≥ 25 kg/m²), according to WHO
- bronchial asthma diagnosed according to GINA 2018 criteria, at least 18 months before study inclusion,
- treatment of at least grade II according to GINA 2018

Exclusion criteria comprise:

- acute bacterial and viral infections, within 7 days prior to study inclusion,
- type 1 or type 2 diabetes, diagnosed according to WHO recommendations,
- chronic uncontrolled inflammatory diseases other than asthma,
- mental disorders that make cooperation and contact with the patient difficult,
- women who are pregnant or breastfeeding.

The study group (n=71) was evaluated:

- BMI, overweight subgroups (n=42), and obese subgroups (n=29) were separated, and waist circumference and WHR were assessed
- body composition by electrical bioimpedance method (n=46),
- intensity of pharmacological treatment of asthma, according to GINA 2018: patients were classified into grade II (n=5), grade III (n=13), grade IV (n=25), and grade V (n=28) asthma control,
- spirometry: due to FEV1 parameter, patients were classified into group with FEV1 $\geq 70\%$ (n=51) and FEV1 $< 70\%$ (n=20),
- asthma control test (ACT): based on the score obtained, patients were classified into the group with good asthma control (20-25 points) (n=26), partial asthma control (16-19 points) (n=14), and poor asthma control (5-15 points) (n=31),
- peripheral eosinophilia: based on the number of eosinophils in peripheral blood, patients (n=51) were classified into < 150 number of eosinophils/microliter of peripheral blood (n=27), $\geq 150 < 300$ number of eosinophils/microliter of peripheral blood (n=11), and ≥ 300 number of eosinophils/microliter of peripheral blood (n=13),
- FeNO was determined in a group (n=37) of overweight or obese subjects, due to FeNO value, patients were split into FeNO < 20 ppb group (n=18) and FeNO ≥ 20 ppb group (n=19),

- the prevalence of atopy: based on analysis of patients' medical history and prick and/or allergen-specific IgE test results for at least twenty common aeroallergens. The clinical significance of the allergens found to cause asthma symptoms was assessed. On this basis, patients were divided into allergic asthma (n=45), and non-allergic asthma (n=26).

Statistical methods

In summary tables, numerical data are presented as mean values, maxima, minima, number of trials (n), standard deviation (SD), and medians. Assessment of the probability of the distribution of numerical variables to a normal distribution was performed using the Kolmogorov-Smirnov test. In some of the variables, similarity to the normal distribution was not confirmed. Values were compared between the reported groups using Pearson's parametric test, Mann-Whitney's non-parametric U test, and *paired t-test* for significance for two means. Interdependence between variables was assessed by Spearman's rank correlation. GraphPad Prism 10.02 software (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) was used for statistical analysis and chart preparation. Statistical significance was determined at $p < 0.05$.

Results

The study group was dominated by women than men, the median age of women was 60 years, and men - 59 years. In the study group, a statistically significant correlation between eosinophil concentration and FeNO was observed ($r=0.07$, $p<0.0001$).

Omentin

There were no statistically significant correlations between omentin serum concentrations in the subjects and $25 \leq \text{BMI} < 30$ versus $\text{BMI} \geq 30$, both in the entire study group (n=71) and in the subgroups of women (n=40) and men (n=31), nor between the genders. The median omentin concentration in women was 459.65 ng/ml and in men 387.89 ng/ml.

Omentin concentration was higher ($p=0.02$) in women than in men both in the allergic (481.9 ng/ml versus 407.5 ng/ml) and non-allergic (445.8 ng/ml versus 375.6 ng/ml) groups. However, this was not observed in the entire study group.

Omentin concentration was higher in women than in men both in asthma treatment stages II-III (454.6 ng/ml *versus* 394.8 ng/ml, $p=0.02$) and stages IV-V (468, 6 ng/ml *versus* 411.9 ng/ml, $p=0,02$).

There was no difference in the serum omentin concentration in groups with different degrees of asthma control, nor a correlation between the serum omentin concentration and FEV1% in the whole study group ($n=71$) and in the women's subgroup, as well as in the men's subgroup. A statistically significant positive correlation between omentin concentration in serum and FeNO was demonstrated in the group of men ($r=0.54$, $p=0.034$).

There was no difference in the serum omentin concentration in groups with different steps of asthma control, nor a correlation between the serum omentin concentration and FEV1% in the entire study group ($n=71$) as well as between females and males subgroups. A statistically significant positive correlation between omentin concentration in serum and FeNO was demonstrated in the male subgroup ($r=0.54$, $p=0.034$).

Vaspin

There were no statistically significant correlations between serum vaspin concentration in the subjects and $25 \leq \text{BMI} < 30$ *versus* $\text{BMI} \geq 30$ in the study group ($n=49$) or in the subgroup of women ($n=28$) and the subgroup of men ($n=21$), nor between genders. The median vaspin concentrations in females and males were 0.18 ng/ml and 0.16 ng/ml, respectively.

Serum vaspin concentrations were found significantly lower in non-allergic than allergic men ($n=21$, $p=0.04$), while no such relationship was found in the subgroup of women ($n=28$).

A statistically significant lower concentration of vaspin in serum was found in women with asthma at treatment stages IV-V as compared to the ones at treatment stages II-III ($p=0.0365$).

In the study group ($n=49$), there was no statistically significant difference in serum vaspin concentration between patients with partially or poorly controlled asthma ($\text{ACT} < 20$) and well-controlled asthma ($\text{ACT} \geq 20$). In contrast, a statistically significant difference was found in the concentration of vaspin in serum between the subgroups of women and men with partially or poorly controlled asthma and those with well-controlled asthma.

A statistically significant positive correlation was observed between serum vaspin concentration and FeNO in the subgroup of men ($r=0.32$, $p=0.039$).

Conclusions

1) Overweight or obese patients with allergic or non-allergic asthma showed statistically significant higher omentin concentrations in women than in men, as well as higher omentin concentrations in women than in men in subgroups treated at intensity levels II-III and IV-V, according to GINA.

2) Overweight or obese women with asthma showed statistically significant higher vaspin concentrations in the subgroup treated at intensity levels II-III, according to GINA, compared to the subgroup treated at GINA intensity levels IV-V. In contrast, statistically significantly higher concentrations of vaspin were shown in overweight or obese men with asthma compared to non-allergic asthma.

3) There were positive correlations between omentin as well as vaspin concentrations and FeNO in the male subgroup.

4) There was no association of serum omentin and vaspin concentrations with BMI, with allergic and non-allergic asthma endotype, or with the degree of asthma control and intensity of asthma treatment in the entire study group.

5) Since the concentrations of omentin and vaspin were statistically significantly different in the male and female groups studied, it appears that sex hormones may affect the activity of both these adipokines in overweight or obese asthmatic patients.