



Rola genów zegara biologicznego

w astmie atopowej

The role of circadian clock genes in atopic asthma

SUMMARY

The circadian clock is an endogenous system that synchronizes metabolic processes with the day-night cycle. The central and peripheral biological clocks are located in the suprachiasmatic nucleus in hypothalamus and in the club cells in the airways, respectively. Both systems cooperate to maintain homeostasis, whereas the disturbances may result in the development of systemic diseases, including asthma.

In asthma, disturbances of the clock genes lead to symptoms intensification in the early morning that result from changes in the expression of clock genes within immune cells. Increased concentration of inflammatory mediators promotes inflammation and increase susceptibility to viral infections. Polymorphism in small, non-coding RNAs (miRNAs) and β -adrenergic receptor genes may also be associated with early morning dyspnoea and poor response to bronchodilator drugs.

Despite many studies, the role of the circadian clock in asthma pathogenesis is not fully discovered and requires further studies.

.....

Zegar biologiczny jest wewnętrznym mechanizmem organizmów żywych synchronizującym procesy metaboliczne z cyklem dnia i nocy. Centralny i peryferyjny zegar biologiczny znajdują się odpowiednio w jądrach nadskrzyżowaniowych podwzgórza i maczugowatych komórkach oskrzelikowych dróg oddechowych. Oba mechanizmy współdziałają utrzymując homeostazę organizmu, a ich zaburzenia prowadzą do chorób o charakterze ogólnoustrojowym, m.in. astmy.

W astmie zaburzenia zegara biologicznego są związane z dobowymi fluktuacjami objawów chorobowych, nasilających się w godzinach wczesno-porannych. Główną przyczyną są zmiany ekspresji genów zegara biologicznego w obrębie komórek odpornościowych. Wzrost stężenia mediatorów zapalnych nasila objawy choroby i zwiększa podatność na infekcje wirusowe, będące częstą przyczyną zaostrzeń w astmie. Badania genetyczne potwierdzają również udział polimorfizmu małych, niekodujących RNA (miRNA) i receptora β -adrenergicznego w predyspozycji do wystąpienia porannych napadów duszności i gorszej odpowiedzi na leki rozszerzające oskrzela.

Rola genów zegara w patogenezie astmy oskrzelowej pozostaje niejasna i wymaga dalszych badań.

Szczepankiewicz A.: Rola genów zegara biologicznego w astmie atopowej. *Alergia*, 2018, 2; 39-42

Zegar biologiczny jest wewnętrznym mechanizmem regulującym dobową oscylację licznych procesów metabolicznych. Wpływ zegara biologicznego na funkcjonowanie organizmu został dobrze udokumentowany, szacuje się, że jego kontroli podlega transkrypcja do 10% wszystkich genów człowieka [1], [2].

Udział zegara biologicznego zaobserwowano m.in. w regulacji aktywności układu sercowo-naczyniowego [3], gospodarki hormonalnej [4], metabolizmu glukozy oraz procesów trawiennych [5], jak również zachowania [6].

Zaburzenia w regulacji zegara biologicznego często mają charakter ogólnoustrojowy i mogą prowadzić do poważnych schorzeń [7].

Najnowsze badania potwierdzają występowanie zaburzeń regulacji zegara biologicznego u chorych na astmę atopową, co wiąże się z wystąpieniem dobowych zmian w nasileniu objawów chorobowych. Celem niniejszej pracy jest przegląd najważniejszych informacji dotyczących genów zegara biologicznego w patogenezie astmy atopowej.

Mechanizm molekularny zegara biologicznego

Centralny zegar biologiczny znajduje się w jądrach nadskrzyżowaniowych podwzgórza, pełniąc funkcję wyłącznego generatora rytmów biologicznych. Z tego obszaru nerwami układu współczulnego wysyłane są impulsy elektryczne zawiadujące i koordynujące peryferyjne zegary biologiczne zlokalizowane w tkankach całego ciała.



Dr hab. n. med.
**Aleksandra
Szczepankiewicz**

mgr inż.
Wojciech Langwiński

Pracownia Badań
Komórkowych
i Molekularnych Kliniki
Pneumonologii, Alergologii
Dziecięcej i Immunologii
Klinicznej UM
w Poznaniu

Kierownik Pracowni:
Dr hab. n. med.
Aleksandra
Szczepankiewicz

Kierownik Kliniki:
Prof. dr hab. n. med.
Anna Bręborowicz

Słowa kluczowe:

astma atopowa, zegar biologiczny, stan zapalny

Key words:

atopic asthma, circadian clock, inflammation

Głównym czynnikiem synchronizującym centralny zegar biologiczny i, pośrednio również zegary peryferyjne, jest światło słoneczne, które przez siatkówkę oka i drogę siatkówkowo-podwzgórzową dociera do jąder nadskrzyżowaniowych. Pozwala to dostosować liczne procesy metaboliczne organizmu, a tym samym jego odpowiedź do warunków panujących w środowisku zewnętrznym oraz cyklu dnia i nocy [8], [9].

Mimo dobrze poznanej anatomicznej lokalizacji centralnego zegara biologicznego, nie zostało wyjaśnione, które komórki regulują cykl okołodobowy w płucach w przypadku peryferyjnego zegara biologicznego. Przypuszcza się, że rolę tę mogą odgrywać maczugowate komórki oskrzelikowe (dawniej Clara), które wykazują cykliczne dobowe zmiany ekspresji genów zegara biologicznego: *CLOCK* i *PER*. Potwierdzają to wyniki badania, w którym wybiórcze usunięcie komórek oskrzelikowych z hodowli skutkowało zaniknięciem dobowych zmian ekspresji genu *PER* [10].

Molekularne działanie zegara biologicznego obejmuje szereg procesów zachodzących w ciągu 24 godzin i opartych na zasadzie ujemnego sprzężenia zwrotnego. Pierwszym etapem niezbędnym do rozpoczęcia cyklu jest homodimeryzacja białkowych produktów genów *CLOCK* i *BMAL1*. Powstały kompleks stymuluje ekspresję genów kontrolowanych przez zegar biologiczny (ang. clock-controlled genes, CCG). Do najważniejszych z nich należą geny *PER*, *CRY*, *RORS* oraz *REV-ERBS*. Pierwsze dwa są eksportowane z jądra komórkowego prowadząc do znaczącego wzrostu liczby transkryptów tych genów w cytoplazmie. W nocy, gdy ich stężenie jest najwyższe, łączą się z białkiem *TIMELESS*, a następnie ulegają translokacji do jądra komórkowego. Powstały kompleks hamuje aktywność heterodimeru *CLOCK:BMAL1*, obniżając ekspresję genów CCG, a tym samym również *PER* i *CRY*. Drugą osi regulującą zegar biologiczny są białka *RORS* i *REV-ERBS*, odpowiednio stymulujące i hamujące ekspresję genu *BMAL1* [11], [12]. Mechanizm molekularny sterujący regulacją zegara biologicznego w ciągu dnia i w nocy przedstawiono na rycinie 1.

Zegar biologiczny w ujęciu klinicznym

W warunkach fizjologicznych regulacja średnicy oskrzeli odbywa się poprzez naprzemienne działanie układu współczulnego i przywspółczulnego. Pobudzenie receptorów β -adrenergicznych (będących częścią układu współczulnego) powoduje rozszerzenie oskrzeli, podczas gdy stymulacja receptorów nikotynowych/muskarynowych (będących częścią układu przywspółczulnego) zmniejsza ich światło.

- W warunkach fizjologicznych, naprzemienne działanie tych dwóch układów receptorowych skutkuje niewielką dobową oscylacją światła oskrzeli, które u osoby zdrowej nie prowadzi do pojawienia się objawów [13], [14].
- W przypadku osób chorych na astmę, dobowe wahania średnicy oskrzeli są zdecydowanie większe, co prowadzi do pojawienia się wczesno porannych napadów duszności i większej liczby interwencji lekarskich o tej porze doby [15].

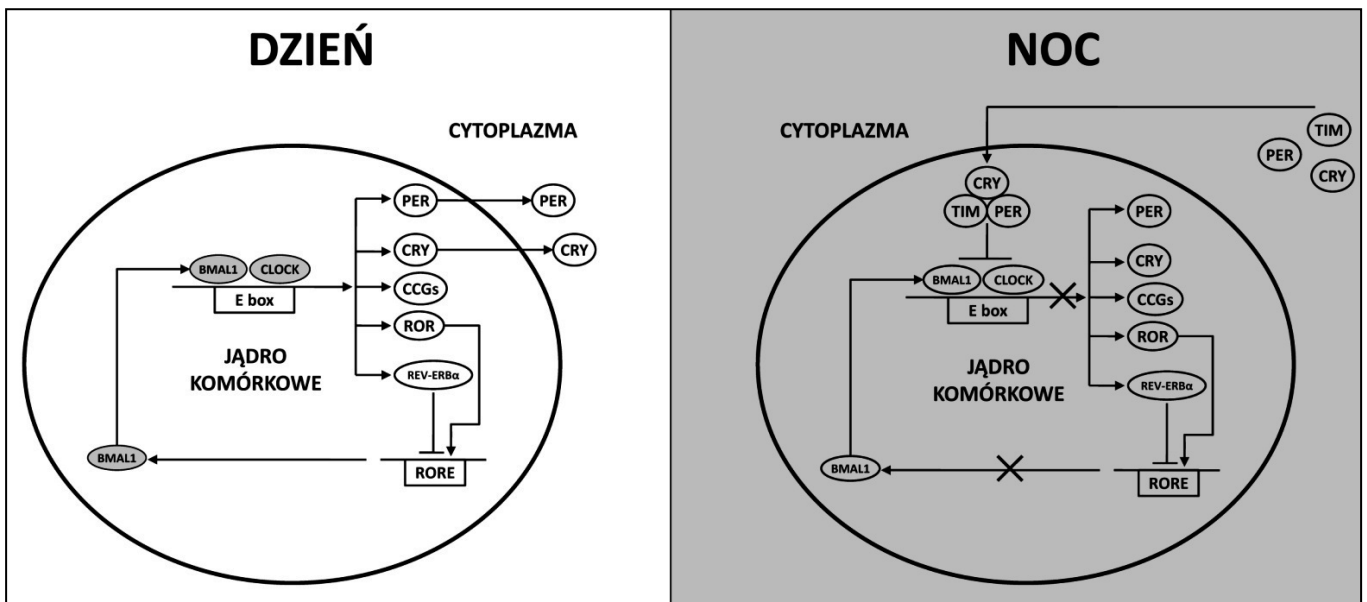
Ilościowo, do pomiaru wahanego stopnia ciężkości obturacji wykorzystuje się ocenę parametrów spirometrycznych, charakteryzujących przepływ powietrza w drogach oddechowych w ciągu doby. U pacjentów z dobową fluktuacją objawów obserwuje się wyraźne wahania wskaźników spirometrycznych takich jak FEV1 czy PEF, które wykazują najniższe wartości około godziny 4 nad ranem, a najwyższe około godziny 16 [16]. Spadkowi przepływu powietrza towarzyszy również wyraźny wzrost oporu dróg oddechowych w godzinach wczesno porannych [17].

Jednym z pierwszych badań dotyczących dobowych zmienności objawów astmy była praca opublikowana w 1985 w grupie 3000 chorych, u których obserwowano dobową cykliczność objawów. W pracy zaobserwowano, że napady duszności występują aż 70 razy częściej w godzinach porannych (4-5 rano) w porównaniu do godzin popołudniowych (godzina 14-15) [1].

Z kolei Turner-Warwick i wsp. [18] w badaniu przeprowadzonym w grupie 7729 pacjentów z astmą wykazali, że aż 74% badanych doświadczyło porannych napadów dusz-

1
Ryc.

Molekularny mechanizm zawiadujący regulacją centralnego i peryferyjnego zegara biologicznego. Przedstawiony cykl powtarza się co 24 godziny, stymulując ekspresję genów CCG w ciągu dnia i hamując w nocy





ności co najmniej raz w tygodniu. Na uwagę zasługuje fakt, że poranne duszności mogą pojawiać się codziennie nawet u 40% chorych [19], co przy 235 milionach chorych na astmę stanowi poważny problem natury medycznej [20].

Dobowe zmienności objawów chorobowych astmy występują również w grupie pacjentów pediatrycznych.

Badania Strunk i wsp. [13] przeprowadzone u dzieci z astmą wykazały, że prawie 34% dzieci przynajmniej raz w ciągu 28-dniowej obserwacji doświadczyło porannych napadów duszności, a ich występowanie korelowało ze stopniem ciężkości choroby i atopią (podwyższone stężenie przeciwciał IgE w surowicy oraz pozytywny wynik punktowych testów skórnych). Podobne badania z udziałem pacjentów pediatrycznych z astmą przeprowadzili również Horner i wsp. [21], którzy wykazali, że w trakcie 48-dniowej obserwacji u 73% badanych dzieci przynajmniej raz wystąpiły poranne napady duszności wymagające podania leku rozszerzającego oskrzela.

Na uwagę zasługuje również badanie Levin i wsp. [22], w którym analizowano zależności pomiędzy porannymi napadami duszności u osób cierpiących na astmę a różnym pochodzeniem etnicznym w populacji amerykańskich pacjentów pochodzenia europejskiego i afrykańskiego. Pacjenci pochodzenia afrykańskiego ponad dwa razy częściej zgłaszali wystąpienie porannych duszności niż pacjenci pochodzenia europejskiego.

Wykorzystując dane z badań całego genomu (ang. genome-wide association studies, GWAS) potwierdzono, że pochodzenie afrykańskie jest czynnikiem ryzyka dla wystąpienia porannych napadów duszności.

Niezależnie od zaburzeń regulacji zegara biologicznego, warto wziąć pod uwagę, że na dobową oscylację objawów astmy i wystąpienie porannych napadów duszności mogą wpływać inne czynniki np. pozycja leżąca chorego podczas snu (skutkująca zaleganiem wydzieliny), spadek temperatury ciała, ekspozycja na alergeny (wcześniejszy kontakt ze zwierzętami lub ekspozycja na roztocza kurzu domowego) oraz stres [19], [20].

Zegar a stan zapalny

Oprócz centralnego i peryferyjnego zegara biologicznego kluczową rolę w dobowej oscylacji objawów astmy odgrywa również zegar biologiczny obecny w komórkach układu immunologicznego, który steruje dobową regulacją takich procesów jak proliferacja komórek zapalnych, prezentacja antygenów czy wydzielanie mediatorów stanu zapalnego [1], [23], które nasilają skurcz oskrzeli, produkcję śluzu, remodeling drzewa oskrzelowego oraz utrzymują istniejący stan zapalny w drogach oddechowych [24].

Dobowe oscylacje w funkcjonowaniu układu immunologicznego (intensyfikacja działania w nocy i spadek aktywności w ciągu dnia) uważane są obecnie za główną przyczynę fluktuacji objawów u chorych na astmę oskrzelową [15], [25]. Udział zegara biologicznego w regulacji układu immunologicznego został wykazany w badaniach zarówno z wykorzystaniem materiału pochodzącego od pacjentów jak również modeli *in vivo* oraz *in vitro* [26]–[28].

Istotnym czynnikiem zwiększającym ryzyko astmy, a także najczęstszym czynnikiem zaostrzającym objawy

choroby są infekcje wirusowe dróg oddechowych [29]. Wydaje się, że zwiększona podatność na infekcje może być związana z zaburzeniami ekspresji genów zegara biologicznego [30].

Badania przeprowadzone przez Gibbs i wsp. [31] z wykorzystaniem mysiego modelu indukowanego stanu zapalnego wykazały, że inhalacja zwierząt roztworem lipopolisacharydów (LPS) znacząco zwiększała całkowitą liczbę komórek odpornościowych w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych (ang. bronchoalveolar lavage, BALF), a ich liczba podlegała dobowym zmianom. Te same oscylacje w BALF wykazano również w przypadku stężenia kluczowych dla zapalenia, cytokin i chemokin: IL-6, TNF α , G-CSF, CXCL1, CXCL2 oraz CXCL5. W kontynuacji tych badań wykazano istotny udział zmian dobowych w regulacji ekspresji chemokiny CXCL5, odpowiedzialnej za rekrutację neutrofilów do miejsca zapalenia. Indukcja stanu zapalnego u myszy spowodowała znaczący wzrost ilości CXCL5, wydzielanej przez maczugowate komórki oskrzelikowe, osiągając maksymalne stężenia w godzinach nocnych. Podanie tym samym zwierzętom glikokortykosteroidów zmniejszało ilość wydzielanej CXCL5 oraz liczbę neutrofilów, ograniczając stan zapalny w drogach oddechowych.

Co ciekawe, zwierzęta pozbawione genu *BMAL1* (ang. gene knock-out) nie reagowały na podanie glikokortykosteroidów, co sugeruje kluczową rolę genów zegara biologicznego w odpowiedzi na leki przeciwzapalne. Innym badaniem wykorzystującym model myszy pozbawiony genu *BMAL1* było badanie Haspel i wsp. [32]. Autorzy zaobserwowali upośledzoną odpowiedź zmodyfikowanych zwierząt na wirusa paragrypy oraz wirus grypy typu A, a w drogach oddechowych tych zwierząt obserwowano przebudowę ściany oskrzeli charakterystyczną dla osób chorujących na astmę. W tym samym badaniu wykazano obniżoną ekspresję tego genu w płucach pacjentów z astmą. Powyższe informacje sugerują, że spadek ekspresji *BMAL1* może znacząco upośledzać odpowiedź układu immunologicznego u osób chorych na astmę, co tłumaczyło by zwiększoną zachorowalność na infekcje wirusowe w tej grupie chorych.

Związek między genami zegara biologicznego a zwiększoną podatnością na infekcje wirusowe dróg oddechowych wykazali Ehlers i wsp. [33] na tym samym modelu – myszy pozbawione genu *BMAL1* wykazywały zwiększoną odpowiedź zapalną (podwyższona liczba leukocytów w BALF oraz podwyższoną ekspresję wspomnianej już chemokiny CXCL5 oraz IL-6) w porównaniu do myszy z aktywną formą genu. W tym samym badaniu wykazano również obniżoną ekspresję *BMAL1* w astmie w oparciu o materiał pobrany z wymazów szczoteczkowych z oskrzeli dorosłych pacjentów oraz wymazów szczoteczkowych z nosa pacjentów pediatrycznych.

Oprócz modeli *in vivo*, również w badaniach klinicznych u pacjentów z astmą cierpiących na poranne napady duszności wykazano dobowe wahania liczby komórek zapalnych w BALF oraz dobową oscylację ekspresji mediatorów stanu zapalnego (neurotoksyny eozynofilowej (EDN, ang. eosinophil derived neurotoxin), eozynofilowego białka kationowego (ECP, ang. eosinophil cationic protein) i histaminy w BALF i krwi obwodowej u pacjentów z astmą [34]–[38].

Wspomniane mediatory osiągają swoje maksymalne stężenie około godziny 4 nad ranem, co bezpośrednio przekłada się wzrost wykładników stanu zapalnego i wystąpienie porannych napadów duszności. Dobową zmienność w liczbie eozynofili i makrofagów potwierdzono również w płwocinie [38] i tkance płuc [39].

Na uwagę zasługują również badania nad dobową regulacją ekspresji receptorów dla leków rozszerzających oskrzela. W swoim badaniu Szeffler i wsp. [40] wykazali znaczący spadek gęstości receptorów β -adrenergicznych na powierzchni leukocytów o godzinie 4 rano w porównaniu do godziny 16 u pacjentów z astmą cierpiących na nocne duszności.

Obniżona liczba receptorów w godzinach porannych skutkowałą spadkiem odpowiedzi na leki z grupy β -agonistów. Co ciekawe, zmian w gęstości receptorów nie zaobserwowano u pacjentów z astmą bez porannych napadów duszności. Z kolei w badaniu Karam i wsp. [41] wykazano, że warianty genetyczne receptora β -adrenergicznego mogą odgrywać kluczową rolę w predyspozycji do porannych napadów duszności, wykazano, że homozygoty posiadające glicynę w pozycji 16 receptora β 2-adrenergicznego (ADRB2) są bardziej narażone na poranne napady duszności.

Badania nad genetycznym uwarunkowaniem fluktuacji objawów astmy prowadzono również w aspekcie małych niekodujących RNA (miRNA), których zmiany ekspresji były związane z objawami astmy oskrzelowej [42], [43]. W badaniu przeprowadzonym przez Hussein i wsp. [44] wyka-

zono, że polimorfizm jednego z tych genów, miR-196a2, (rs11614913) i genotyp CC występuje 17 razy częściej u pacjentów z dobową zmiennością objawów astmy i większym ich nasileniem w porównaniu do pacjentów bez porannych napadów duszności.

Podsumowanie

Istotny w dobowych oscylacjach objawów astmy oraz w aspekcie leczenia porannych napadów duszności wydaje się udział genów zegara biologicznego, których zaburzona ekspresja może nasilać nocne objawy i pogarszać odpowiedź na terapię przeciwzapalną i rozszerzającą oskrzela. Dobowa zmienność nasilenia objawów chorobowych stanowi poważny problem medyczny i wyzwanie dla lekarzy. Poranne napady duszności stanowią częstą przyczynę nieobecności w szkole lub pracy, a w przypadku astmy niekontrolowanej mogą doprowadzić nawet do śmierci chorego. W związku z tym konieczne jest opracowanie strategii postępowania z pacjentem zgłaszającym problemy z oddychaniem w godzinach nocnych i porannych. Kluczową rolę w zapobieganiu porannym nasileniom objawów może w przyszłości odgrywać terapia ukierunkowana na geny zegara biologicznego mająca na celu przywrócenie prawidłowej regulacji zegara.

Ponadto, próba skorelowania dawki leku z rytmem okołodobowym pacjenta (chronoterapia) stwarza szansę na poprawę efektywności obecnie stosowanych leków przy jednoczesnym zminimalizowaniu skutków ubocznych.

Adres do korespondencji:
Pracownia Badań Komórkowych
i Molekularnych Kliniki
Pneumonologii, Alergologii
Dziecięcej i Immunologii Klinicznej,
Uniwersytet Medyczny w Poznaniu
ul. Szpitalna 27/33, 60-572 Poznań

Prace nadesłano
29.05.2018
Zaakceptowano do
druku 30.05.2018

Konflikt interesów nie występuje.
Treści przedstawione w artykule
są zgodne z zasadami Deklaracji
Helsińskiej, dyrektywami EU oraz
ujednoczonymi wymaganiami dla
czasopism biomedycznych.

Piśmiennictwo: 1. M. Comas et al., "A circadian based inflammatory response – implications for respiratory disease and treatment," *Sleep Sci. Pract.*, vol. 1, no. 1, p. 18, Dec. 2017. 2. G. Mazzoccoli, M. O. Laukkanen, M. Vinciguerra, T. Colangelo, and V. Colantuoni, "A Timeless Link Between Circadian Patterns and Disease," *Trends Mol. Med.*, vol. 22, no. 1, pp. 68–81, Jan. 2016. 3. M. E. Young, "Circadian Control of Cardiac Metabolism: Physiologic Roles and Pathologic Implications," *Methodist DeBakey Cardiovasc. J.*, vol. 13, no. 1, pp. 15–19, 2017. 4. K. L. Gamble, R. Berry, S. J. Frank, and M. E. Young, "Circadian Clock Control of Endocrine Factors," *Nat. Rev. Endocrinol.*, vol. 10, no. 8, pp. 466–475, Aug. 2014. 5. A. Balakrishnan, A. Tavakkolizadeh, and D. B. Rhoads, "Circadian clock genes and implications for intestinal nutrient uptake," *J. Nutr. Biochem.*, vol. 23, no. 5, pp. 417–422, May 2012. 6. G. Hampp and U. Albrecht, "The circadian clock and mood-related behavior," *Commun. Integr. Biol.*, vol. 1, no. 1, pp. 1–3, 2008. 7. M. Harrington, "Location, location, location: important for jet-lagged circadian loops," *J. Clin. Invest.*, vol. 120, no. 7, pp. 2265–2267, Jul. 2010. 8. C. L. Parfich, C. B. Green, and J. S. Takahashi, "Molecular architecture of the mammalian circadian clock," *Trends Cell Biol.*, vol. 24, no. 2, pp. 90–99, Feb. 2014. 9. T. Roenneberg and M. Mewrow, "The Circadian Clock and Human Health," *Curr. Biol. CB*, vol. 26, no. 10, pp. R432–443, 23 2016. 10. J. E. Gibbs et al., "Circadian timing in the lung; a specific role for bronchiolar epithelial cells," *Endocrinology*, vol. 150, no. 1, pp. 268–276, Jan. 2009. 11. E. D. Buhr and J. S. Takahashi, "Molecular components of the mammalian circadian clock," *Handb. Exp. Pharmacol.*, no. 217, pp. 3–27, 2013. 12. A. Shostak, "Circadian Clock, Cell Division, and Cancer: From Molecules to Organism," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 18, no. 4, Apr. 2017. 13. R. C. Strunk, A. L. Sternberg, L. B. Bacharier, and S. J. Szeffler, "Nocturnal awakening caused by asthma in children with mild-to-moderate asthma in the childhood asthma management program," *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 110, no. 3, pp. 395–403, Sep. 2002. 14. H. Hadden, S. J. Soldin, and D. Massaro, "Circadian disruption alters mouse lung clock gene expression and lung mechanics," *J. Appl. Physiol.*, vol. 113, no. 3, pp. 385–392, Aug. 2012. 15. A. B. Bohadana, B. Hannhart, and D. B. Teulescu, "Nocturnal worsening of asthma and sleep-disordered breathing," *J. Asthma Off. J. Assoc. Care Asthma*, vol. 39, no. 2, pp. 85–100, Apr. 2002. 16. M. R. Hetzel and T. J. Clark, "Comparison of normal and asthmatic circadian rhythms in peak expiratory flow rate," *Thorax*, vol. 35, no. 10, pp. 732–738, Oct. 1980. 17. W. H. Khan, V. Mohsenin, and C. M. D'Ambrosio, "Sleep in asthma," *Clin. Chest Med.*, vol. 35, no. 3, pp. 483–493, Sep. 2014. 18. M. Turner-Warwick, "Epidemiology of nocturnal asthma," *Am. J. Med.*, vol. 85, no. 1B, pp. 6–8, Jul. 1988. 19. "Asthma: Symptoms Show a Circadian Rhythm," *Chronobiology.com*, 15-May-2015. 20. "WHO | Asthma," WHO. [Online]. Available: <http://www.who.int/respiratory/asthma/en/> [Accessed: 21-Apr-2018]. 21. C. C. Horner et al., "Most nocturnal asthma symptoms occur outside of exacerbations and associate with morbidity," *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 128, no. 5, pp. 977–982.e1–2, Nov. 2011. 22. A. M. Levin et al., "Nocturnal asthma and the importance of race/ethnicity and genetic ancestry," *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 190, no. 3, pp. 266–273, Aug. 2014. 23. M. Keller et al., "A circadian clock in macrophages controls inflammatory immune responses," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 106, no. 50, pp. 21407–21412, Dec. 2009. 24. J. M. Krueger, F. J. Obál, J. Fang, T. Kubota, and P. Taishi, "The role of cytokines in physiological sleep regulation," *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 933, pp. 211–221, Mar. 2001. 25. J. E. Gibbs et al., "The nuclear receptor REV-ERB α mediates circadian regulation of innate immunity through selective regulation of inflammatory cytokines," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 109, no. 2, pp. 582–587, Jan. 2012. 26. A. M. Curtis, M. M. Bellet, P. Sassone-Corsi, and L. A. J. O'Neill, "Circadian Clock Proteins and Immunity," *Immunity*, vol. 40, no. 2, pp. 178–186, Feb. 2014. 27. N. Labrecque and N. Cermakian, "Circadian Clocks in the Immune System," *J. Biol. Rhythms*, vol. 30, no. 4, pp. 277–290, Aug. 2015. 28. O. A. Habbal and A. A. Al-Jabri, "Circadian rhythm and the immune response: a review," *Int. Rev. Immunol.*, vol. 28, no. 1, pp. 93–108, 2009. 29. R. Krenk, "Asthma oskrzelowa – aktualny stan wiedzy," *Med. Pasje*. 30. C.-K. Kim, Z. Callaway, and J. E. Gern, "Viral Infections and Associated Factors That Promote Acute Exacerbations of Asthma," *Allergy Asthma Immunol. Res.*, vol. 10, no. 1, pp. 12–17, Jan. 2018. 31. J. Gibbs et al., "An epithelial circadian clock controls pulmonary inflammation and glucocorticoid action," *Nat. Med.*, vol. 20, no. 8, pp. 919–926, Aug. 2014. 32. J. Haspel, "Clock Gene Control of Viral Infection and Asthma," *Grantome*. 33. A. Ehlers et al., "BMAL1 links the circadian clock to viral airway pathology and asthma phenotypes," *Mucosal Immunol.*, Apr. 2017. 34. R. J. Martin, L. C. Ciccutto, H. R. Smith, R. D. Ballard, and S. J. Szeffler, "Airways inflammation in nocturnal asthma," *Am. Rev. Respir. Dis.*, vol. 143, no. 2, pp. 351–357, Feb. 1991. 35. T. W. Mackay et al., "Role of inflammation in nocturnal asthma," *Thorax*, vol. 49, no. 3, pp. 257–262, Mar. 1994. 36. Y. Oosterhoff, H. F. Kauffman, B. Rutgers, F. J. Zijlstra, G. H. Koeter, and D. S. Postma, "Inflammatory cell number and mediators in bronchoalveolar lavage fluid and peripheral blood in subjects with asthma with increased nocturnal airways narrowing," *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 96, no. 2, pp. 219–229, Aug. 1995. 37. W. J. Calhoun, M. E. Bates, L. Schrader, J. B. Sedgwick, and W. W. Busse, "Characteristics of peripheral blood eosinophils in patients with nocturnal asthma," *Am. Rev. Respir. Dis.*, vol. 145, no. 3, pp. 577–581, Mar. 1992. 38. S. E. Panzer, A. M. Dodge, E. A. B. Kelly, and N. N. Jarjour, "Circadian variation of sputum inflammatory cells in mild asthma," *J. Allergy Clin. Immunol.*, vol. 111, no. 2, pp. 308–312, Feb. 2003. 39. M. Kraft, R. J. Martin, S. Wilson, R. Djukanovic, and S. T. Holgate, "Lymphocyte and eosinophil influx into alveolar tissue in nocturnal asthma," *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 159, no. 1, pp. 228–234, Jan. 1999. 40. S. J. Szeffler, R. Ando, L. C. Ciccutto, W. Surs, M. R. Hill, and R. J. Martin, "Plasma histamine, epinephrine, cortisol, and leukocyte beta-adrenergic receptors in nocturnal asthma," *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 49, no. 1, pp. 59–68, Jan. 1991. 41. R. A. Karam, N. A. Sabbah, H. E. Zidan, and H. M. A. Rahman, "Association between genetic polymorphisms of beta2 adrenergic receptors and nocturnal asthma in Egyptian children," *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.*, vol. 23, no. 4, pp. 262–266, 2013. 42. B. Narozna, W. Langwiński, and A. Szczepankiewicz, "Non-Coding RNAs in Pediatric Airway Diseases," *Genes*, vol. 8, no. 12, Nov. 2017. 43. O. D. Solberg et al., "Airway epithelial miRNA expression is altered in asthma," *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 186, no. 10, pp. 965–974, Nov. 2012. 44. M. H. Hussein, E. A. Toraih, N. M. Aly, E. Riad, and M. S. Fawzy, "A passenger strand variant in miR-196a2 contributes to asthma severity in children and adolescents: A preliminary study," *Biochem. Cell Biol. Biochim. Biol. Cell.*, vol. 94, no. 4, pp. 347–357, Aug. 2016.