

Potencjalne zastosowanie krótkich interferujących RNA (siRNA) w terapii astmy

Potential applications of short interfering RNA (siRNA) in asthma therapy



Dr n. med.
Beata Narozna

Pracownia Badań Komórkowych i Molekularnych Kliniki Pneumonologii, Alergologii Dziecięcej i Immunologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

Kierownik Pracowni:
Prof. dr hab. n. med.
Aleksandra Szczepankiewicz

Kierownik Kliniki:
Dr hab. n. med.
Irena Wojsyk-Banaszak

S U M M A R Y

Short interfering RNAs (siRNAs) are highly specific molecules capable of precisely targeting genes involved in disease development. The use of this technology may enable the development of more selective and effective treatments compared to current methods. This article presents the current state of research on the application of siRNA in asthma therapy, with a particular focus on the advantages and limitations of the method and a discussion of preclinical study results.

.....

Krótkie interferujące RNA (siRNA) to cząsteczki o wysokiej specyficzności działania i możliwości precyzyjnego celowania w konkretne geny zaangażowane w rozwój choroby. Wykorzystanie tej technologii może pozwolić na opracowanie bardziej selektywnego i skutecznego leczenia niż obecne metody. Niniejszy artykuł przedstawia aktualny stan badań nad zastosowaniem siRNA w leczeniu astmy, ze szczególnym uwzględnieniem zalet i wad metody oraz omówieniem wyników badań przedklinicznych.

Narozna B.: Potencjalne zastosowanie krótkich interferujących RNA (siRNA) w terapii astmy. *Alergia*, 2024, 3; 32-35

Według szacunków Światowej Organizacji Zdrowia, astma dotyka około 300 mln osób na całym świecie, a liczba ta ma tendencję wzrostową [1]. Około 5-10% pacjentów choruje na astmę ciężką, a w przypadkach niekontrolowanej postaci choroby kwalifikują się oni się do terapii biologicznych opartych na przeciwciałach monoklonalnych [2]. Obecnie dostępne leki na astmę skupiają się na łagodzeniu objawów, co podkreśla potrzebę opracowania nowych metod terapeutycznych, które cechuje wysoka skuteczność oraz minimalne działania niepożądane.

Krótkie interferujące RNA (siRNA) to dwuniciowe cząsteczki RNA o długości 20-25 par zasad [3]. W komórce siRNA jest inkorporowane do kompleksu białkowego RISC (ang. RNA-induced silencing complex), gdzie następuje rozdzielenie nici. SiRNA wiąże się z sekwencją docelowego mRNA na zasadzie całkowitej komplementarności, co prowadzi do degradacji nowopowstałego kompleksu mRNA/siRNA przez endonukleazę Ago2 z rodziny białek Argonaute. Efektem jest wyciszenie ekspresji docelowego genu. Proces ten, znany jako interferencja RNA, jest intensywnie badany pod kątem jego potencjalnego zastosowania terapeutycznego w regulacji ekspresji genów.

Ze względu na to, że celem siRNA jest tylko jeden konkretny gen, kluczowym elementem potencjalnej terapii jest identyfikacja genu odpowiedzialnego za rozwój choroby [4]. Znajomość sekwencji genów umożliwia

szybkie i stosunkowo proste zaprojektowanie odpowiedniej cząsteczki.

Krótkie interferujące RNA (siRNA) działają w cytoplazmie, co ułatwia ich dostarczenie do komórki; jednocześnie niewielka ilość (kilka nanomoli) jest wystarczająca do wyciszenia genu docelowego. Co istotne, terapia siRNA jest bardziej selektywna i specyficzna niż terapie oparte na przeciwciałach monoklonalnych.

Pomimo tych zalet, terapia siRNA napotyka na pewne trudności, takie jak niewystarczająca efektywność dostarczania do komórek, problemy ze stabilnością, podatność na degradację przez enzymy komórkowe, możliwość indukcji odpowiedzi immunologicznej oraz ryzyko niespecyficznego wyciszenia innych genów (tzw. efekt off-target). Dodatkowo, zastosowanie siRNA w leczeniu chorób złożonych jest ograniczone ze względu na złożoność czynników środowiskowych i genetycznych, które często trudno powiązać z jednym konkretnym genem.

Sposoby dostarczania siRNA do organizmu

Istnieje kilka metod dostarczania siRNA do organizmu, które różnią się pod względem skuteczności, szybkości działania, stabilności działania oraz ryzyka wywołania odpowiedzi immunologicznej. Istotna jest tutaj zarówno forma podania leku, jak i sposób jego dostarczenia.

Słowa kluczowe:
terapia genowa, leki biologiczne, wziewna terapia siRNA

Key words:
gene therapy, biological drugs, inhaled siRNA therapy

SiRNA może być dostarczane w różnych formach: za pomocą systemów wirusowych, takich jak retrowirusy, lentiwirusy czy wirusy związane z adenowirusami (ang. Adeno-Associated Virus, AAV), lub przy użyciu peptydów, liposomów, polimerów, nanocząsteczek, bądź w oryginalnej albo zmodyfikowanej chemicznie formie dwuniciowych nukleotydów [5-7].

Systemy wirusowe zapewniają lepszą efektywność dostarczenia siRNA poprzez proces transdukcji oraz umożliwiają trwałą lub przejściową ekspresję; jednakże ich stosowanie wiąże się z ryzykiem mutagenyzy, intensywnej odpowiedzi immunologicznej oraz cytotoksyczności [8]. Metody nie wykorzystujące wirusów charakteryzują się nieco niższą skutecznością, ale ich plusem jest wysoka biokompatybilność i biodegradowalność oraz niska immunogenność. Ponadto, chemiczne i fizyczne właściwości tych materiałów można odpowiednio zmodyfikować w celu poprawy efektywności dostarczenia, skuteczności czy stabilności.

Cząsteczki najczęściej są dostarczane w formie zastrzyku podskórnego, zastrzyku bezpośredniego do narządu docelowego, wlewu dożylnego, donosowo lub za pomocą inhalacji [9-11]. Szczególnie ta ostatnia metoda charakteryzuje się dość dużą skutecznością oraz działaniem miejscowym w terapii chorób dróg oddechowych. Badania przedkliniczne wykazały, iż dostarczenie siRNA lokalnie, zamiast systemowo, pozwala na szybsze uzyskanie odpowiedniego stężenia przy jednoczesnym zminimalizowaniu niespecyficznego dystrybucji do innych organów.

Problemy związane z podaniem leku

Złożona budowa układu oddechowego, obecność śluzu i surfaktantu w drogach oddechowych, klirens śluzowo-rzęskowy i fagocytoza to kluczowe czynniki, które przekładają się na skuteczność terapii z zastosowaniem siRNA [11]. Lek musi zawierać cząsteczki o właściwej wielkości, która umożliwi akumulację odpowiedniej dawki siRNA w dolnych drogach oddechowych, jednocześnie minimalizując ryzyko fagocytozy przez makrofagi [4]. Formuła leku powinna także pozwalać na skuteczne przenikanie przez warstwę śluzu do komórek docelowych.

Podanie leków poprzez inhalację jest sprawdzonym sposobem w terapii astmy. Najczęściej stosowane urządzenia to inhalatory ciśnieniowe z dozownikiem (pMDI), inhalatory suchego proszku (DPI) i nebulizatory [12]. W pMDI pojemnik zawiera sprężony gaz, który służy jako nośnik dla cząsteczek leku. Jednak wysoka prędkość aerozolu może prowadzić do degradacji siRNA, co wymaga modyfikacji sposobu ich podania, najczęściej w formie kompleksów polimerowych [13]. Z kolei zastosowanie DPI wymaga precyzyjnego doboru wielkości cząsteczek oraz zapewnienia odpowiedniej wilgotności, często przy użyciu substancji pomocniczych, takich jak węglowodany (np. trehaloza, mannitol). Nebulizacja, choć użyteczna, wykazuje najmniejszą skuteczność, ponieważ siły działające podczas wytwarzania aerozolu prowadzą do zbyt szybkiej degradacji siRNA.

Badania przedkliniczne ujawniły kilka istotnych problemów: różnice w anatomii dróg oddechowych pomiędzy ludźmi a myszami, trudności w ocenie stężenia leku osiągniętego efekt terapeutyczny oraz ogólnego stężenia w różnych regionach płuc, a także ograniczenia związane z metodą podania leku (poprzez nebulizację lub w komorze inhalacyjnej) [14]. Alternatywne metody dostarczenia leku, takie jak podanie donosowe i dotchawicze, mogą lepiej naśladować aerodynamikę leku podanego w sposób naturalny, jednakże wymagają zastosowania znieczulenia. Znieczulenie to może zaburzać klirens śluzowo-rzęskowy, co utrudnia ocenę eliminacji siRNA z organizmu.

Badania kliniczne

Amerykańska Agencja Żywności i Leków zatwierdziła dotychczas jedynie sześć preparatów opartych na siRNA, z których żaden nie jest stosowany w pneumologii. Większość z nich jest przeznaczona do leczenia rzadkich chorób genetycznych [15]. Każdy z zatwierdzonych leków musiał wykazać się specyficznością dla konkretnych komórek, skutecznością dostarczenia do miejsca docelowego oraz odpornością na zbyt szybką eliminację z organizmu i hydrolizę przez nukleazy. Te wyzwania rozwiązano poprzez odpowiednie modyfikacje chemiczne oraz zastosowanie nanocząsteczek lipidowych jako nośników.

Zastosowanie leków opartych na siRNA w leczeniu chorób genetycznych jest jak najbardziej uzasadnione, ponieważ mutacje prowadzące do choroby są znane i dobrze zdefiniowane. SiRNA można odpowiednio zaprojektować, aby precyzyjnie celować i wyciszać wadliwy gen, co prowadzi do zmniejszenia objawów choroby.

W chorobach złożonych, fenotyp jest efektem kombinacji czynników środowiskowych i genetycznych, co utrudnia wskazanie jednego celu dla terapii siRNA. Wymagane jest więc bardziej wszechstronne podejście. W związku z tym większość badań koncentruje się na opracowywaniu jak najlepszych nośników dla siRNA oraz na celach genetycznych, które są wykorzystywane w istniejących terapiach biologicznych lub zostały wskazane w badaniach asocjacyjnych całego genomu jako istotne.

Obecnie nie prowadzi się żadnych aktywnych badań klinicznych dotyczących zastosowania siRNA w terapii astmy. Ostatnie badanie tego typu dotyczyło preparatu Excellair™, opracowanego przez ZaBeCor Pharmaceuticals. Był to inhalacyjny lek bez nośnika, skierowany przeciwko mRNA kinazy tyrozynowej śledzionowej (SYK), mający na celu złagodzenie odpowiedzi zapalnej i leczenie astmy [16]. SYK to kluczowy enzym w komórkach tucznych; po aktywacji uczestniczy w degranulacji tych komórek i wydzielaniu mediatorów stanu zapalnego, takich jak interleukina 4 (IL-4) i interleukina 13 (IL-13) [17]. Badania fazy I wykazały, iż lek był dobrze tolerowany przez pacjentów, bez skutków ubocznych u 100% uczestników, a także poprawił zdolność oddechową u 75% pacjentów z astmą. Jednakże badanie fazy II, rozpoczęte w 2009 roku, zostało przerwane

w 2015 roku z nieznanymi przyczynami; niewiadome jest czy preparat wykazał się odpowiednią skutecznością i bezpieczeństwem stosowania [18].

Badania przedkliniczne

Zastosowanie siRNA w celach terapeutycznych zostało wielokrotnie przebadane na modelach komórkowych i zwierzęcych.

- W jednym z badań skupiono się na czynniku transkrypcyjnym GATA3, kluczowym regulatorze odpowiedzi immunologicznej, szczególnie w różnicowaniu i funkcjonowaniu limfocytów T pomocniczych typu 2 (Th2) [19]. Komórki Th2 aktywowane przez GATA3 produkują cytokiny, takie jak IL-4 i IL-13, które odgrywają istotną rolę w patogenezie chorób alergicznych. Zespół badawczy opracował lek oparty na kompleksie siRNA skierowanym przeciwko GATA3 i transferyną-polietylenoiminą (Tf-PEI). Polietylenoimina (PEI) pełni rolę nośnika polikationowego, a transferyna umożliwia przeniknięcie kompleksu do wnętrza limfocytów T poprzez aktywację swojego receptora. Problemem była retencja kompleksu w endosomach, co stanowi istotne wyzwanie w terapii RNA [20]. Zmodyfikowano więc formułę leku poprzez dodanie kompleksu opartego na zmodyfikowanej melitynie (Mel-PEI), peptydzie wspomagającym wydostawanie się cząsteczek z endosomów do cytoplazmy. Tf-Mel-PEI wykazywał wysoką stabilność, małe rozmiary (poniżej 200 nm) oraz zwiększoną przenikalność do cytoplazmy. Efektywność tego systemu została przetestowana na ludzkich organoidach płucnych, tj. precyzyjnie skrojonych skrawkach płuc (ang. Precision Cut Lung Slices, PCLS) [21]. Lek skutecznie dostarczył siRNA do nabłonka dróg oddechowych i wyciszył ekspresję GATA3 z wydajnością 88%.
- Podanie donosowe siRNA skierowanego przeciwko IL-4 i IL-13 w mysim modelu uczulenia na owalbuminę spowodowało wyciszenie ekspresji tych cytokin o ponad 50%, co w efekcie zmniejszyło stan zapalny, eozynofilię oraz nadreaktywność dróg oddechowych [22].
- W innym badaniu, w tym samym modelu, kompleks siRNA przeciwko IL-4Ra (receptor dla IL-4 i IL-13) połączono z peptydem RVG9R3LC i podano dotchawczo [23]. Efektem było wyciszenie ekspresji IL-4Ra oraz zmniejszenie stanu zapalnego, nadreaktywności dróg oddechowych, metaplazji komórek kubkowych i wydzielania śluzu. Kompleks RVG9R:siRNA ma odpowiednią wielkość (165 nm) i rozpoznaje odpowiednie receptory na powierzchni komórek nabłonka dróg oddechowych, co gwarantuje jego specyficzność, jednocześnie nie wzbudzając odpowiedzi immunologicznej.
- Choi i wsp. badali chitynazę jako potencjalny cel terapeutyczny w ciężkiej astmie [24]. Chitynazy Chil3 i Chil4 są kluczowymi enzymami produkowanymi przez makrofagi po aktywacji cytokinami Th2, odgrywając istotną rolę w patogenezie astmy poprzez indukcję stanu zapalnego i przebudowy dróg oddechowych [25]. W badanym modelu, siRNA skierowane przeciwko Chil3 i Chil4, połączone z ligandem HMG (ang. High Mobility Group) oraz micelami OR (ang. Oligoarginine

Micelle), wykazywały zdolność do wiązania z receptorami TLR4 (ang. Toll-like receptor 4) i RAGE (ang. receptor for advanced glycation endproducts) na powierzchni aktywowanych makrofagów. Podanie dotchawcze w mysim modelu uczulenia na owalbuminę obniżyło ekspresję Chil3 i Chil4 w płucach oraz zmniejszyło objawy astmy, takie jak eozynofilia, stan zapalny dróg oddechowych oraz nadmierna produkcja śluzu.

- W innym badaniu celem terapii siRNA był receptor kinazy tyrozynowej c-KIT, protoonkogen kluczowy w rozwoju stanu zapalnego w astmie [26]. Lek zawierający chemicznie zmodyfikowane siRNA, podany donosowo w mysim modelu astmy alergicznej, skutecznie obniżył ekspresję c-KIT oraz złagodził objawy astmy, takie jak eozynofilia, nadprodukcja śluzu oraz podwyższony poziom cytokin Th2.
- Zafra i wsp. skupili się na genie SOCS3 (ang. Suppressor of Cytokine Signalling 3), regulatorze szlaku sygnałowego, którego ekspresja jest znacząco zwiększona u pacjentów z ciężką astmą [27]. Donosowa aplikacja „nagiego” siRNA (bez nośnika i modyfikacji) przeciw SOCS3 w mysim modelu astmy przewlekłej doprowadziła do zmniejszenia produkcji śluzu oraz depozycji kolagenu w płucach. Ponadto, zaobserwowano obniżenie fosforylacji STAT3, co potwierdza rolę SOCS3 jako regulatora szlaku JAK/STAT w patogenezie astmy.
- Natomiast Zhang i wsp. opracowali nanocząsteczki lipidowe (LNP) ukierunkowane na receptor ICAM-1 (ang. Intercellular Adhesion Molecule 1), które zostały załadowane siRNA przeciwko mRNA TSLP, tworząc kompleks Pep-LNP [28]. ICAM-1 to białko powierzchniowe komórek, które odgrywa kluczową rolę w procesach adhezji międzykomórkowej: jest odpowiedzialne za rekrutację komórek zapalnych, wzmacnia odpowiedź alergiczną, stymuluje proliferację i aktywację fibroblastów, co prowadzi do przebudowy dróg oddechowych [29]. Nowatorski kompleks Pep-LNP wykazał selektywność wobec komórek nabłonka dróg oddechowych, prowadząc do zmniejszenia nasilenia stanu zapalnego, obniżenia poziomu cytokin IL-4 i IL-13 oraz ograniczenia produkcji śluzu.

Podsumowanie

Astma stanowi poważny problem zdrowotny, a obecne terapie jedynie łagodzą objawy, nie eliminując ich przyczyny. SiRNA to obiecująca metoda terapeutyczna, która może okazać się bardziej skuteczna i bezpieczna niż dostępne leki biologiczne, co jest szczególnie istotne w leczeniu ciężkiej postaci astmy. Głównym wyzwaniem w terapii siRNA jest skuteczne dostarczenie cząsteczek do komórek docelowych w płucach. W tym celu siRNA jest najczęściej łądowane do odpowiednich nośników. Najbardziej obiecującą metodą dostarczania siRNA do terapii chorób dróg oddechowych jest inhalacja. Badania przedkliniczne wykazały, że siRNA może skutecznie wyciszać ekspresję genów zaangażowanych w rozwój astmy i łagodzić objawy choroby. Konieczne są dalsze badania kliniczne, aby potwierdzić bezpieczeństwo i skuteczność terapii siRNA w leczeniu astmy. ■

Prace nadesłano
20.08.2024
Zaakceptowano do
druku 3.09.2024

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

Piśmiennictwo: 1. Diseases, G.B.D. and C. Injuries, Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*, 2020. 396(10258): p. 1204-1222. **2.** Hekking, P.W., et al., The prevalence of severe refractory asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 2015. 135(4): p. 896-902. **3.** Gavrillo, K. and W.M. Saltzman, Therapeutic siRNA: principles, challenges, and strategies. *Yale J Biol Med*, 2012. 85(2): p. 187-200. **4.** Fan, Y. and Z. Yang, Inhaled siRNA Formulations for Respiratory Diseases: From Basic Research to Clinical Application. *Pharmaceutics*, 2022. 14(6). **5.** Wang, Y., et al., Is Viral Vector Gene Delivery More Effective Using Biomaterials? *Adv Healthc Mater*, 2021. 10(1): p. e2001238. **6.** Nikam, R.R. and K.R. Gore, Journey of siRNA: Clinical Developments and Targeted Delivery. *Nucleic Acid Ther*, 2018. 28(4): p. 209-224. **7.** Zhang, J., et al., A Comprehensive Review of Small Interfering RNAs (siRNAs): Mechanism, Therapeutic Targets, and Delivery Strategies for Cancer Therapy. *Int J Nanomedicine*, 2023. 18: p. 7605-7635. **8.** Gao, J., et al., Progress in non-viral localized delivery of siRNA therapeutics for pulmonary diseases. *Acta Pharm Sin B*, 2023. 13(4): p. 1400-1428. **9.** Pan, M., et al., New paradigms on siRNA local application. *BMB Rep*, 2015. 48(3): p. 147-52. **10.** Sufianov, A., et al., Advances in transdermal siRNAs delivery: A review of current research progress. *Noncoding RNA Res*, 2023. 8(3): p. 392-400. **11.** Lam, J.K., W. Liang, and H.K. Chan, Pulmonary delivery of therapeutic siRNA. *Adv Drug Deliv Rev*, 2012. 64(1): p. 1-15. **12.** Usmani, O.S., et al., The Impact of Inhaler Device Regimen in Patients with Asthma or COPD. *J Allergy Clin Immunol Pract*, 2021. 9(8): p. 3033-3040 e1. **13.** Conti, D.S., et al., Poly(amidoamine) dendrimer nanocarriers and their aerosol formulations for siRNA delivery to the lung epithelium. *Mol Pharm*, 2014. 11(6): p. 1808-22. **14.** Hinchcliffe, M. and L. Illum, Intranasal insulin delivery and therapy. *Adv Drug Deliv Rev*, 1999. 35(2-3): p. 199-234. **15.** Sehgal, I., K. Eells, and I. Hudson, A Comparison of Currently Approved Small Interfering RNA (siRNA) Medications to Alternative Treatments by Costs, Indications, and Medicaid Coverage. *Pharmacy (Basel)*, 2024. 12(2). **16.** Burnett, J.C., J.J. Rossi, and K. Tiemann, Current progress of siRNA/shRNA therapeutics in clinical trials. *Biotechnol J*, 2011. 6(9): p. 1130-46. **17.** Denyer, J. and V. Patel, Syk kinase inhibitors in allergic diseases. *Drug News Perspect*, 2009. 22(3): p. 146-50. **18.** Liao, W., et al., Oligonucleotide Therapy for Obstructive and Restrictive Respiratory Diseases. *Molecules*, 2017. 22(1). **19.** Keil, T.W.M., D. Baldassi, and O.M. Merkel, T-cell targeted pulmonary siRNA delivery for the treatment of asthma. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 2020. 12(5): p. e1634. **20.** Dowdy, S.F., Endosomal escape of RNA therapeutics: How do we solve this rate-limiting problem? *RNA*, 2023. 29(4): p. 396-401. **21.** Kandil, R., et al., Targeted GATA3 knockdown in activated T cells via pulmonary siRNA delivery as novel therapy for allergic asthma. *J Control Release*, 2023. 354: p. 305-315. **22.** Ip, S., et al., The mixture of siRNAs targeted to IL-4 and IL-13 genes effectively reduces the airway hyperreactivity and allergic inflammation in a mouse model of asthma. *Int Immunopharmacol*, 2022. 103: p. 108432. **23.** Ullah, I., et al., Targeted siRNA delivery to lung epithelia reduces airway inflammation in a mouse model of allergic asthma. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2024. 29(1): p. 97-108. **24.** Choi, M., et al., Targeted delivery of Chil3/Chil4 siRNA to alveolar macrophages using ternary complexes composed of HMG and oligoarginine micelles. *Nanoscale*, 2020. 12(2): p. 933-943. **25.** Lee, C.G., et al., Role of chitin and chitinase/chitinase-like proteins in inflammation, tissue remodeling, and injury. *Annu Rev Physiol*, 2011. 73: p. 479-501. **26.** Wu, W., et al., Intranasal siRNA targeting c-kit reduces airway inflammation in experimental allergic asthma. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014. 7(9): p. 5505-14. **27.** Zafra, M.P., et al., Gene silencing of SOCS3 by siRNA intranasal delivery inhibits asthma phenotype in mice. *PLoS One*, 2014. 9(3): p. e91996. **28.** Zhang, M., et al., Airway epithelial cell-specific delivery of lipid nanoparticles loading siRNA for asthma treatment. *J Control Release*, 2022. 352: p. 422-437. **29.** Ceyhan, B.B., et al., Role of the adhesion molecule ICAM-1 in asthma. *J Asthma*, 1995. 32(6): p. 419-27.

Piśmiennictwo ze str. 11: 1. Pirożyński M. Inhalatory suchego proszku (dry powder inhalers – DPI) łatwe do stosowania dla wszystkich chorych? *Alergia*. 2019;2:11 - 5. **2.** Gardenhire DS, Ari A, Hess D, Myers TR. A Guide to Aerosol Delivery Devices for Respiratory Therapists, 3rd Edition. 2013; 1-59. 3 ed: American Association for Respiratory Care; 2013. **3.** Chrystyn H. The Diskus: a review of its position among dry powder inhaler devices. *Int J Clin Pract*. 2007;61(6):1022-36. **4.** Chrystyn H. Closer to an 'ideal inhaler' with the Easyhaler: an innovative dry powder inhaler. *Clin Drug Investig*. 2006;26(4):175-83. **5.** Tony SM, Abdelrahim MEA. Inhalation Devices and Pulmonary Drug Delivery. *Journal of Clinical and Nursing Research*. 2022;6(3):54-72. **6.** O'Connor BJ. The ideal inhaler: design and characteristics to improve outcomes. *Respir Med*. 2004;98 Suppl A:S10-6. **7.** Atkins PJ. Dry powder inhalers: an overview. *Respir Care*. 2005;50(10):1304-12; discussion 12. **8.** Buttini F, Quarta E, Allegrini C, Lavorini F. Understanding the Importance of Capsules in Dry Powder Inhalers. *Pharmaceutics*. 2021;13(11). **9.** Pirożyński M. Przyszłość inhalatorów suchego proszku – czy możliwe są do stosowania u wszystkich chorych. *Alergia*. 2022;2:19-24. **10.** Pirożyński M. Terapia inhalacyjna – wizja lekarza. *Alergia*. 2022;3:13-8. **11.** Chrystyn H, Lavorini F. The dry powder inhaler features of the Easyhaler that benefit the management of patients. *Expert Rev Respir Med*. 2020;14(4):345-51. **12.** Pattan V, Chiu KC, Samoa R. Recurrent, refractory hypokalemia as a diagnostic clue to thyrotoxic periodic paralysis in a patient with acute kidney injury and suspected Guillain-Barre syndrome. *Clin Case Rep*. 2021;9(6):e04443. **13.** Emeryk A, Pirożyński M, Emeryk-Maksymiuk J. Dry powder inhalers - between the doctor and the patient. *Adv Respir Med*. 2018;86(1):44-52. **14.** Melani AS, Bonavia M, Cilenti V, Cinti C, Lodi M, Martucci P, et al. Inhaler mishandling remains common in real life and is associated with reduced disease control. *Respir Med*. 2011;105(6):930-8. **15.** GOLD. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. 2024. **16.** GINA. Global strategy for asthma management and prevention. Updated 2024 2024. **17.** Harb HS, Laz NI, Rabea H, Abdelrahim MEA. First-time handling of different inhalers by chronic obstructive lung disease patients. *Exp Lung Res*. 2020;46(7):258-69. **18.** Usmani OS. Choosing the right inhaler for your asthma or COPD patient. *Ther Clin Risk Manag*. 2019;15:461-72. **19.** Alvarez-Gutierrez FJ, Gomez-Bastero Fernandez A, Medina Gallardo JF, Campo Sien C, Rytilla P, Delgado Romero J. Preference for Easyhaler (R) Over Previous Dry Powder Inhalers in Asthma Patients: Results of the DPI PREFER Observational Study. *Patient Prefer Adherence*. 2021;15:349-58.

Piśmiennictwo ze str 42: 1. https://pl.wikipedia.org/wiki/%C5%9Swinia_domowa **2.** Sudharson S, Kalic T, Hafner S et al. Newly defined allergens in the WHO/UIUS Allergen Nomenclature Database during 01/2019-03/2021. *Allergy*. 2021 Nov; 76(11): 3359–3373. **3.** Wawrzyńczyk A, Bartuzi Z. Zespoły kliniczne alergii krzyżowej. *Alergia Astma Immunologia* 2018, 23 (2). **4.** Allergome.org **5.** Hilger C. Route of exposure to allergen: Food. Luxembourg Institute of Health, Infection & Immunity 2019-09-26 **6.** Liu Z, Trifonova D, Tulaeva I et al. Albumins represent highly cross-reactive animal allergens. *Front Immunol*. 2023 Oct 20; Matt. 14:1241518 **7.** Abreu C, Gomez R., Borja BA et al. Pork-cat syndrome? *Clin Transl Allergy*. 2015; 5(3): P164 **8.** Kile MR, Lucas MD, Ganguli MP et al. The cat and the pig: a peculiar case in an allergy clinic. *Cureus*. 2023 30 Sept; 15(9): E46284 **9.** Romański B, Bartuzi Z. *Alergia i nietolerancja pokarmów*. Śląsk – Wydawnictwo Naukowe, 2002. **10.** Kennedy JL, Stallings AP, Platts-Mills TA, et al. Galactose-alpha-1,3-galactose and delayed anaphylaxis, angioedema and urticaria in children. *Paediatrics* 2013; 131(5): E1545-E1552 **11.** Morisset M, Richard C, Astier C et al. Porcine kidney anaphylaxis is associated with galactose-alpha-1,3-galactose specific IgE antibodies. *Allergy* 2012; 67(5):699-70 **12.** Erbitux https://urpl.gov.pl/sites/default/files/PL_Erbitux_ChPL.pdf **13.** <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4163007> **14.** Mozzicato S, Tripathi A, Posthumus JB et al. Porcine or Bovine Valve Replacement in Three Patients with IgE [https://www.jacionline.org/article/S0091-6749\(04\)03992-2](https://www.jacionline.org/article/S0091-6749(04)03992-2) **15.** Kendall PL, Marney Jr SR. Porcine heparin allergy in a pork allergic patient: A case report. *JACI*, 2005, 113, 2, S181 **16.** Buczyłko K.: Nie tylko alergeny: nietolerancja histaminy. *Alergia*, 2016, 1: 35-38 **17.** Buczyłko K, Bartnicka A, Kruszewski J i inni. Nietolerancja histaminy. Wytyczne diagnostyki i postępowania w nietolerancji histaminy. *Alergologia Polska* 2023; 10, 3: 141–151 **18.** Cortez LM, Brodski D, Chen C et al. Immunological and pathological characterization of a new biomedical research model of pigs in eosinophilic esophagitis. *Frontal allergy*. 2022 Nov 14; 3:1029184. doi: 10.3389/falgy.2022.1029184 **19.** Plundrich NJ, Smitha AR, Borst LB et al. Esophageal eosinophilia accompanies egg white food allergy in young pigs. *Frontal allergy* 2022 Dec 3; 1029184. doi: 10.3389/falgy.2022.1029184. **20.** EAACI Molecular Allergy User's Guide - Matricardi - 2016 **21.** van Nunen S. Galactose-alpha-1,3-galactose, mammalian meat and anaphylaxis: a worldwide phenomenon? *Curr Allergy Treat Options* 2014; 1(3):262-277