

Streszczenie

Rola ścieżki sygnałowej CD200-CD200R w mysim modelu zapalenia jelita

Nieprawidłowe funkcjonowanie układu odpornościowego może prowadzić do rozwoju nieswoistych zapaleń jelit (NZJ). W przebiegu zapalenia przełamanie bariery ochronnej błony śluzowej jelita powoduje przedostawanie się bakterii jelitowych do głębszych jego warstw i rozwoju zapalenia. Udowodniono, że cytokiny wydzielane przez monocyty, makrofagi, neutrofile i inne komórki nieswoistej odporności są odpowiedzialne za inicjację i progresję NZJ. Jednym z mechanizmów regulujących aktywność komórek układu odpornościowego jest obecność cząsteczek powierzchniowych, takich jak CD200R. Dowiedziono, że CD200R jest receptorem znajdującym się głównie na makrofagach i komórkach dendrytycznych. Pobudzenie CD200R przez ligand – cząsteczkę CD200, prowadzi między innymi do zmniejszenia wydzielania cytokin prozapalnych i mediatorów procesu zapalnego. Do tej pory jednak ścieżka sygnałowa CD200-CD200R w kontekście odpowiedzi immunologicznej w jelicie nie została wyczerpująco zbadana i opisana w literaturze.

Celem pracy doktorskiej była:

- ocena różnorodności komórek układu odpornościowego zaangażowanych w rozwój zapalenia jelita grubego w mysim modelu eksperymentalnym;
- ocena obecności CD200 i CD200R na powierzchni komórek układu odpornościowego, biorących udział w rozwoju zapalenia jelita grubego;
- ocena roli ścieżki sygnałowej CD200-CD200R w zapaleniu jelita grubego;
- próba wyjaśnienia mechanizmu regulacji zapalenia jelita grubego przez CD200R.

W ramach pracy doktorskiej przeprowadzono doświadczenia z użyciem mysiego modelu zapalenia jelita grubego indukowanego podawaniem roztworu dekstranu siarczanu sodu (DSS). Aby ocenić rolę ścieżki sygnałowej CD200-CD200R w zapaleniu jelita grubego przeprowadzono doświadczenia z użyciem myszy dzikich, WT (ang. *wild type*) i myszy pozbawionych CD200 (*Cd200^{-/-}*). Do oceny nasilenia objawów zapalenia zastosowano skalę aktywności choroby, która oparta jest na analizie najczęściej występujących objawów chorobowych, takich jak spadek masy ciała, długość okrężnicy, krwawienie z okrężnicy i odbytu, konsystencja stolca. Dodatkowo, wycinki jelita grubego poddano analizie histopatologicznej. Po zakończeniu eksperymentu narządy wypreparowano i analizowano skład i aktywność poszczególnych komórek układu odpornościowego za pomocą cytometrii przepływowej i testów immunoenzymatycznych.

Doświadczenia przeprowadzone w ramach niniejszej pracy doktorskiej pokazały, że w trakcie zapalenia indukowanego podawaniem DSS w jelicie grubym myszy obserwuje się zwiększony naciek komórek pochodzenia szpikowego, wykazujących ekspresję CD200R, takich jak monocyty, neutrofile i makrofagi w porównaniu do śledziony myszy. W badaniach pokazano, że brak CD200 łagodzi przebieg zapalenia jelita grubego w mysim modelu DSS przeprowadzonym z użyciem zwierząt konwencjonalnych, hodowanych w warunkach otwartych. U myszy *Cd200*^{-/-} zaobserwowano mniej nasilone objawy kliniczne choroby a także mniej zaznaczone zmiany histopatologiczne w nabłonku jelitowym w porównaniu do myszy WT. W okrężnicy myszy *Cd200*^{-/-} poddanych działaniu DSS odnotowano zwiększony odsetek monocytów, makrofagów, a także neutrofilów w porównaniu do myszy WT i wykazano, że wymienione komórki mają zdolność wydzielania immunomodulującej IL-10, co mogło przyczynić się do łagodniejszego przebiegu zapalenia u myszy *Cd200*^{-/-}. Usunięcie populacji neutrofilów z organizmu myszy *Cd200*^{-/-} znacznie pogorszyło przebieg zapalenia jelita indukowanego przez DSS u tych zwierząt, co może świadczyć o roli tej populacji w wygaszaniu zapalenia w jelicie. Badanie z użyciem myszy wolnych od specyficznych patogenów (SPF) pokazało, że brak CD200 uwrażliwia te zwierzęta na rozwój zapalenia jelita grubego indukowanego przez DSS. Ponadto przeprowadzenie eksperymentu w warunkach otwartych spowodowało zaostrzenie zapalenia u myszy SPF, w szczególności u myszy *Cd200*^{-/-}. Badania przeprowadzone w części doświadczalnej niniejszej rozprawy dostarczyły nowych informacji na temat regulacji zapalenia jelita przez CD200R. Uzyskane wyniki sugerują, że ścieżka sygnałowa CD200-CD200R moduluje aktywność układu odpornościowego w jelicie, aczkolwiek efekt modulacji CD200-CD200R w zapaleniu jelit zależy od innych czynników, takich jak flora bakteryjna. Bez wątplenia niezbędne są dalsze pogłębione badania, aby należycie ocenić potencjał terapeutyczny modulacji ścieżki sygnałowej CD200-CD200R w leczeniu chorób zapalnych jelit.