

mgr Michał Zych

tytuł rozprawy doktorskiej:

„Wpływ hormonów płciowych na cząsteczki kontrolujące układ odpornościowy u kobiet dotkniętych problemem poronień oraz kobiet rodzących bez komplikacji”

Streszczenie

Wstęp: W otaczającym nas świecie coraz większym wyzwaniem dla społeczeństwa są trudności w posiadaniu potomstwa. Jednym elementem tego zjawiska są poronienia, które stanowią przyczynę niepowodzenia w co siódmej ciąży. Według definicji, gdy dochodzi do dwóch lub więcej poronień przed 22 tygodniem ciąży w tym samym stosunku partnerskim, wtedy mówimy o poronieniach nawykowych, które dotyczą około 5% par starających się o potomstwo i problem ten staje się coraz bardziej zauważalny wśród społeczeństwa. Coraz częściej jako przyczynę poronień uznaje się nieprawidłowości w funkcjonowaniu układu immunologicznego. U kobiet z poronieniami nawykowymi w krwi obwodowej oraz tkankach doczesnej zauważono chociażby podwyższoną ilość komórek NK, obniżoną ilość limfocytów T regulatorowych, czy zachwianie równowagi pomiędzy ilością i funkcjonowaniem limfocytów T pomocniczych typu 1 oraz 2. Dane literaturowe wskazują, że dla prawidłowego przebiegu ciąży niezbędna jest równowaga pomiędzy aktywacją, a wyciszeniem reakcji układu odpornościowego. Odpowiedź komórkowa jest regulowana przez serię skomplikowanych mechanizmów zaczynając od eliminowania autoreaktywnych limfocytów w grasicy, po wyciszenie aktywowanych limfocytów w miejscu stanu zapalnego.

Immunologiczne cząsteczki kontrolujące układ odpornościowy, nazywane immunologicznymi punktami kontroli, możemy podzielić na negatywne (kohamujące) lub dodatnie (kostymulujące). Odgrywają one istotną rolę w regulacji i utrzymaniu homeostazy immunologicznej. Są szeroko badane w kontekście przywrócenia reaktywności immunologicznej na komórki nowotworowe, wykorzystania ich potencjału w leczeniu chorób autoimmunologicznych, czy też w zapobieganiu procesom odrzucaniu przeszczepionych narządów. Receptory kohamujące po związaniu się z ligandami mogą aktywnie dostarczać sygnały prowadzące do wyciszenia aktywacji limfocytów T lub równoważenia sygnałów stymulujących.

Ponadto receptory kohamujące w macicznych limfocytach T promują stan anergii, który ostatecznie prowadzi do tolerancji immunologicznej względem płodu, która stanowi kluczowy element dla prawidłowego rozwoju ciąży. Częsteczki kontrolujące mogą odgrywać znaczącą rolę w kontekście poronień. Badania przeprowadzone na modelach zwierzęcych (myszach) wykazały, że zablokowanie ekspresji genu dla TIM-3 lub PD1 mogło przyczynić się do poronienia u myszy wcześniej prawidłowo rodzących. Dotychczasowe badania określają tylko poszczególne cząsteczki kontrolujące układ odpornościowy na pojedynczych subpopulacjach limfocytów.

Na obecną chwilę ilość terapii dla kobiet z poronieniami nawykowymi jest niewielka. Jedną z terapii jest podawanie pacjentkom progesteronu, ale mechanizm jego działania na poprawę kondycji ciąży u tych kobiet nadal pozostaje nieznan, a potwierdzenie skuteczności terapii nadal pozostaje badana. Wiadomo, że hormony płciowe wpływają w układzie odpornościowym zarówno na odpowiedź humoralną, jak i komórkową. Dane literaturowe wskazują, że podawanie hormonów płciowych ma istotny wpływ na funkcjonowanie limfocytów T, czy komórek NK.

W celu lepszego zrozumienia roli i funkcji cząsteczek kontrolujących układ odpornościowy, w poronieniach nawykowych oraz prawidłowej ciąży, w obecnym projekcie dokonano oceny ekspresji poszerzonego zestawu cząsteczek kontrolujących układ odpornościowy: PD1, TIM-3, LAG-3, VISTA oraz TIGIT. Badania te wykonano na jednoczasowo na subpopulacjach limfocytów T pomocniczych, cytotoksycznych oraz regulatorowych, ale również na komórkach NK oraz NKT. Dodatkowo w ramach projektu wykonano oznaczenie rozpuszczalnych form cząsteczek kontrolujących układ odpornościowy oraz ich ligandów. Uzyskane dane mogą przyczynić się do wyznaczenia parametrów, które mogą być wykorzystane w diagnostyce poronień nawykowych. W projekcie przeprowadzono również badanie wpływu hormonów płciowych takich jak: progesteron, 17 β -estradiol oraz dihydrotestosteron na ekspresję cząsteczek kontrolujących układ odpornościowy na limfocytach T oraz komórkach NK oraz NKT. Uzyskane dane być może pozwolą na wskazanie kierunku, który przybliży znalezienie skutecznej terapii dla kobiet z poronieniami nawykowymi lub wyjaśni mechanizm w jakim terapia hormonalna działa u kobiet z poronieniami nawykowymi.

Materiały i metody: W badaniach brały udział trzy grupy kobiet: kobiety z poronieniami nawykowymi, kobiety w ciąży oraz kobiety nie będące w ciąży, u których wcześniej ciążę rozwijały się prawidłowo. Do oceny obecności cząsteczek kontrolujących układ odpornościowy na komórkach układu odpornościowego wykorzystano metodę cytometrii przepływową.

Natomiast stężenia rozpuszczalnych form cząsteczek kontrolujących układ odpornościowy oraz ich ligandów zostały oznaczone przy wykorzystaniu platformy Luminex. Hodowle komórkowe stymulowane hormonami płciowymi zostały założone z komórek jednojądrzastych wyizolowanych z krwi obwodowej pobranej od uczestników badania. Po 48-godzinnej stymulacji w temperaturze 37°C w cieplarni dokonano oznaczenia obecności cząsteczek kontrolujących układ odpornościowy z wykorzystaniem cytometrii przepływowej.

Wyniki: W wyniku prowadzonych badań wykazano różnicę w ekspresji PD1, LAG-3 oraz VISTA na subpopulacjach limfocytów T dodatkowo wykazaliśmy różnicę w ekspresji TIM-3 na komórkach NK oraz limfocytach T cytotoksycznych pomiędzy kobietami z poronieniami nawykowymi a kobietami ciężarnymi. Również stężenia rozpuszczalnych form cząsteczek kontrolujących układ odpornościowy takich jak sGal-9, sTIM-3, sLAG-3, sCD80, sCD86, sCD112, sCD155, sVISTA okazały się różne pomiędzy badanymi grupami. Wykazano również, że wśród testowanych hormonów płciowych największy wpływ na ekspresję cząsteczek kontrolujących układ odpornościowy ma progesteron w stężeniu 500 ng/ml.

Wnioski: Przeprowadzone badania mogą przyczynić się do ustalenia nowych parametrów (biomarkerów), których ocena może pozwolić na lepszą diagnostykę u kobiet z poronieniami nawykowymi, przez co zwiększyć szansę na prawidłowy rozwój ciąży. Wykazane zmiany po stymulacji hormonami płciowymi wykazują tendencję niwelującą wykryte zaburzenia w ekspresji cząsteczek kontrolujących układ odpornościowy na komórkach kobiet z poronieniami nawykowymi względem kobiet z prawidłowo rozwijającą się ciążą. Zebrane dane dotyczące wpływu hormonów płciowych na komórki układu odpornościowego mogą pozwolić na stworzenie terapii dla kobiet z poronieniami nawykowymi oraz wyjaśnić, w jaki sposób hormony płciowe wpływają na komórki układu odpornościowego w trakcie rozwoju ciąży.