

Streszczenie

pracy doktorskiej lek. wet. Moniki Zuśki-Prot

„Wpływ wziewnej i ogólnej glikokortykosteroidoterapii na limfocyty T regulatorowe i efektorowe – badania porównawcze z zastosowaniem mysiego modelu astmy alergicznej”

Najskuteczniejszym sposobem kontroli zapalenia toczącego się na terenie dróg oddechowych w przebiegu astmy alergicznej jest stosowanie wziewnych glikokortykosteroidów (GK), a w cięższych przypadkach również GK podawanych ogólnie. Żeby lepiej zrozumieć mechanizmy leżące u podstaw przeciwastmatycznego działania tych leków oraz dostarczyć nowych danych dotyczących kwestii ryzyka negatywnego oddziaływania wziewnych GK na limfocyty T $CD4^+$ oraz $CD8^+$, przeprowadzono badania nad wpływem wziewnego i ogólnoustrojowego stosowania GK na liczebność bezwzględna, proliferację i apoptozę efektorowych, regulatorowych (Treg) oraz spoczynkowych limfocytów T $CD4^+$ i $CD8^+$ zarówno w przebiegu mysiego modelu astmy alergicznej – wywoływanego owalbuminą (OVA) – jak i u zwierząt nieimmunizowanych. W badaniach użyto cyklezonidu (CYK) i metyloprednizolonu (MP) jako leków modelowych dla, odpowiednio, wziewnej i systemowej glikokortykosteroidoterapii. Układ eksperymentów obejmował następujące grupy: (1) myszy nieimmunizowane i nieotrzymujące leków; (2) myszy immunizowane i nieotrzymujące leków, a więc zwierzęta z modelem astmy (grupy kontrolne/odniesienia); (3) myszy immunizowane, otrzymujące CYK; (4) myszy immunizowane, otrzymujące MP (grupy eksperymentalne). W dodatkowych eksperymentach stosowano CYK i MP u myszy nieimmunizowanych, a grupę kontrolną stanowiły zwierzęta nieimmunizowane i nietraktowane lekami. Ocenę wyżej wymienionych parametrów przeprowadzono w odniesieniu do limfocytów węzłów chłonnych śródpiersiowych (MLN) i płuc, a więc w obrębie, odpowiednio, strefy indukcyjnej i efektorowej odpowiedzi immunologicznej związanej z patogenezą astmy alergicznej. Szereg parametrów oceniano również w odniesieniu do limfocytów zlokalizowanych poza układem oddechowym, tj. izolowanych z węzłów chłonnych karku i szyi oraz krwi obwodowej. Wszystkie oznaczenia wykonano z zastosowaniem cytometrii przepływowej. Ponadto oceniano efekt stosowania CYK i MP na rozwój zapalenia oskrzeli za pomocą punktowego systemu oceny zmian histopatologicznych. Przeprowadzone badania wskazują, że jednym, i niewykluczone że wiodącym, z mechanizmów leżących u podstaw przeciwastmatycznego działania wziewnych i systemowych GK jest hamowanie aktywacji i ekspansji klonalnej limfocytów efektorowych $CD4^+$ w MLN, co w konsekwencji zapobiega lub ogranicza nacieki

tych komórek do płuc. Natężenie tego działania nie wydaje się różnić między wziewnymi i systemowymi GK. Stwierdzono ponadto, że w przebiegu mysiego modelu astmy alergicznej dochodziło do odpowiedzi ze strony limfocytów T CD8⁺ manifestującej się proliferacją tych komórek oraz ich rekrutacją na teren dolnych dróg oddechowych, a stosowanie zarówno wziewnej, jak i systemowej glikokortkosteroidoterapii zapobiegało tej odpowiedzi. Być może efekt ten ma swój udział w przeciwastmatycznym działaniu GK, jakkolwiek kwestia ta nie jest pewna, gdyż rola limfocytów T CD8⁺ w rozwoju astmy alergicznej nie jest na tyle poznana, aby można w tym zakresie formułować wiążące wnioski. Uzyskane wyniki wskazują, że efekt przeciwastmatyczny GK nie jest związany ani z rekrutacją komórek Treg do MLN i/lub płuc, ani też z lokalnym generowaniem ich powstawania. Należy podkreślić, że całokształt uzyskanych wyników nie potwierdza założenia postulowanego przez wielu autorów, że jednym z mechanizmów odpowiedzialnych za immunosupresyjne właściwości GK jest indukowanie generowania komórek Treg CD4⁺. Przeprowadzone badania wykazały, że wziewne i systemowe GK indukowały porównywalny ubytek prawidłowych efektorowych i regulatorowych limfocytów T CD4⁺ oraz CD8⁺ w MLN, węzłach chłonnych karku i szyi oraz krwi obwodowej. Ponadto, uzyskane wyniki wskazują, że wziewna, ale nie systemowa, glikokortykosteroidoterapia może stwarzać ryzyko ubytku prawidłowych limfocytów T CD4⁺ oraz CD8⁺ w płucach. Cytoredukcyjne działanie GK przynajmniej częściowo może być związane z ich działaniem proapoptotycznym. Tak więc, przeprowadzone badania mocno sugerują, że w zakresie niekorzystnego wpływu na prawidłowe limfocyty T CD4⁺ oraz CD8⁺ obecne w obrębie i poza układem oddechowym, terapia wziewnymi GK może wcale nie być bezpieczniejsza niż systemowe stosowanie GK w dawkach podtrzymujących. Co więcej, stosowanie wziewnych GK może wywierać negatywne efekty na limfocyty T CD4⁺ i CD8⁺ rezydujące w płucach.