

Streszczenie pracy doktorskiej

Wstęp: Do nieswoistych chorób zapalnych jelit (NChZJ) zaliczamy chorobę Leśniowskiego-Crohn'a (ChL-C) oraz wrzodziejące zapalenie jelita grubego (WZJG). Dostępne dane sugerują, że nieprawidłowa odpowiedź immunologiczna przeciwko mikroorganizmom ludzkiej flory bakteryjnej jelit powoduje chorobę u osób podatnych genetycznie. Histamina jest immunomodulującą biogenną aminą, której immunoregulacyjne działanie jest zależne od wiązania się z jednym z czterech receptorów histaminowych (H1R-H4R).

Cel pracy: Zbadanie ekspresji receptorów histaminowych i ich aktywności funkcjonalnej oraz ustalenie roli sygnału histaminowego w modelu NChZJ, a także zbadanie czy histamina moduluje odpowiedź immunologiczną przeciwko bakteriom u pacjentów cierpiących na nieswoiste choroby zapalne jelit.

Materiał i metody: Do badania wykorzystano jednojądrzaste komórki krwi obwodowej (PBMCs) izolowane od pacjentów ze zdiagnozowaną ChL-C i WZJG i od zdrowych ochotników, stanowiących grupę kontrolną. Dodatkowo pobrano wycinki tkanek z miejsc zapalnych i miejsc niewykazujących cech zapalnych (kontrola) od pacjentów cierpiących na NChZJ. Ekspresję genów kodujących receptory histaminowe oceniano metodą łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (RT-PCR) w PBMCs i biopsjach. Ponadto ekspresję receptorów histaminowych na poziomie białkowym oceniano na limfocytach T, limfocytach B oraz monocytów krwi za pomocą cytometrii przepływowej. Geny kodujące enzymy, które biorą udział w syntezie bądź metabolizmie histaminy mierzono metodą RT-PCR w PBMCs i biopsjach, podobnie jak ekspresję genową receptorów Toll-podobnych (TLR) w komórkach krwi, jak również ekspresję genów kodujących cytokiny prozapalne w biopsjach. PBMCs stymulowano odpowiednimi ligandami dla receptorów Toll-podobnych w założonych 24-godzinnych hodowlach komórkowych *in vitro* w obecności lub przy braku histaminy. Wydzielanie cytokin w supernatancie pochodzonym mierzono przy użyciu maszyny Bioplex. Populacje limfocytów TH1, TH2 i TH17 zidentyfikowano za pomocą wielokolorowej cytometrii przepływowej.

Wyniki: Ekspresja genów H1R i H4R jest znacząco obniżona w PBMCs zarówno pacjentów z ChL-C, jak i z WZJG w porównaniu ze zdrowymi ochotnikami. Genowa ekspresja receptorów H2R i H4R jest istotnie zwiększona w tkankach z miejsc zapalnych u chorych z ChL-C, w porównaniu do tkanek kontrolnych. Genowa ekspresja receptorów H1R, H2R i H4R jest istotnie zwiększona w tkankach z miejsc zapalnych u pacjentów z WZJG, w porównaniu do tkanek kontrolnych. Ekspresja genu H2R dodatnio koreluje z ekspresją genu

TNF- α , a ekspresję genu H4R z ekspresją genu IFN- γ w tkankach z miejsc zapalnych od pacjentów z WZJG. Korelacji takich nie zaobserwowano u pacjentów z ChL-C. W cytometrii przepływowej wykryto wzrost względnej proporcji limfocytów B i monocytów krwi obwodowej ekspresjonujących H4R u pacjentów z WZJG, oraz H4R pozytywnych monocytów u pacjentów z ChL-C. Znaczący spadek H2R pozytywnych monocytów krwi obwodowej obserwowano zarówno u pacjentów z ChL-C i WZJG, w porównaniu ze zdrowymi ochotnikami. Ekspresja genu DAO w PBMCs, kodującego enzym odpowiedzialny za rozkład histaminy była znacznie niższa w obu grupach pacjentów z NChZJ w porównaniu z grupą kontrolną. Histamina hamuje wydzielanie IL-12 i MCP-1 po uprzedniej stymulacji receptorów TLR odpowiednimi ligandami u zdrowych ochotników, lecz nie ma wpływu na wydzielanie IL-12 i MCP-1 u pacjentów z NChZJ. Histamina hamuje wydzielanie TNF- α zarówno u pacjentów z NChZJ, jak i w grupie kontrolnej zdrowych ochotników. Hamujące działanie histaminy jest zależne od receptora H2R, jako że dodanie blokera tego receptora - famotydyny, powoduje zniesienie efektu działania histaminy. Zwiększony odsetek limfocytów TH1 i TH17, ale nie limfocytów TH2 zaobserwowano zarówno u pacjentów z ChL-C, jak i WZJG.

Wnioski: Etiologia i patologia NChZJ pozostaje nadal nieznana, ale lepsze zrozumienie mechanizmów odpowiedzi immunologicznej w błonie śluzowej jelit przeciwko bakteryjnym komponentom dostarcza nowych spostrzeżeń na temat patogenezы NChZJ i rzuca nowe światło w kierunku innowacyjnej i ukierunkowanej terapii. W niniejszej pracy badawczej wykazano po raz pierwszy, że ekspresja receptorów histaminowych jest zaburzona u pacjentów z NChZJ, podobnie jak i zmieniony jest wpływ histaminy na przeciwbakteryjną odpowiedź immunologiczną w schorzeniach z kręgu NChZJ. Ponadto, hamujące działanie histaminy na odpowiedź prozapalną przeciw bakteryjnym cząsteczkom poprzez receptor H2R, nie jest tak skuteczne u pacjentów cierpiących na NChZJ, jak obserwuje się u zdrowych ochotników. Wskazuje to na nowe możliwości terapeutyczne w NChZJ. Terapie celowane polegające na modulacji sygnału receptorów histaminowych związkami farmakologicznymi powinny być ocenione w badaniach klinicznych. Kombinacja leków, które blokują receptory H1R i H4R, w połączeniu z lekami, które aktywują receptor H2R może okazać się korzystna dla chorych na NChZJ i powinna przywrócić prawidłową odpowiedź immunologiczną przeciw mikroorganizmom.