

ROLA KOMÓREK T-REGULATOROWYCH ORAZ TH17 W MEDIOWANIU REAKTYWNOŚCI AUTOIMMUNOLOGICZNEJ U PACJENTÓW Z TOCZNIOWYM ZAPALENIEM NEREK.

Marcelina Żabińska

STRESZCZENIE

Ochronna rola komórek regulatorowych oraz fakt występowania zaburzeń ilościowych w subpopulacji Th17 w chorobach autoimmunologicznych są znane, ale ich rola w patogenezie i przebiegu tocznia rumieniowatego układowego nie została w pełni poznana.

Nie jest także wyjaśnione znaczenie limfocytów T $CD8^+$ wydzielających IL-17 (Tc17), zdefiniowanych jako subpopulacja efektorowych limfocytów T uczestniczących w patogenezie chorób autoimmunologicznych, w TRU, choć wiadomo, że równowaga między prozapalnymi komórkami T (Th17 i Tc17) i limfocytami T regulatorowymi (Treg) jest niezbędna do zachowania tolerancji immunologicznej i zapobiega chorobom autoimmunologicznym.

Brakuje ponadto informacji dotyczących znaczenia w patogenezie TRU subpopulacji limfocytów T o fenotypie $CD3^+CD8^+CD28^-$, które jako antygenowo – specyficzne, indukowane i zróżnicowane limfocyty T mogą funkcjonować jako komórki o właściwościach zarówno supresyjnych jak i cytotoksycznych.

Wprowadzenie badania subpopulacji tych komórek u osób chorych na tocznię rumieniowaty układowy może poprawić diagnostykę przewidywania nawrotów choroby i przyczynić się do optymalizacji strategii terapeutycznych, minimalizujących ryzyko efektów ubocznych leczenia.

Celem pracy była ocena stanu mechanizmów regulacji odpowiedzi immunologicznej w powiązaniu z komórkowymi mediatorami efektorowymi w TRU. Istniejące zmiany ilościowe poszczególnych subpopulacji limfocytów T zostały ocenione w powiązaniu ze stanem klinicznym pacjentów z toczniowym zapaleniem nerek.

Dokonano pomiaru ekspresji zewnątrz- i wewnątrzkomórkowych markerów dla poszczególnych populacji komórek. Za pomocą cytometrii przepływowej określono liczebność limfocytów T o fenotypie $CD4^+CD25^+Foxp3^+$, $CD4^+CD25^+CD127^-$ oraz komórek T o fenotypie $CD8^+CD28^-$ i $CD8^+CD28^+FoxP3^+$. Została również określona liczebność populacji komórek Th17 oraz Tc17.

Ponadto wykonano badanie stężeń surowiczych cytokin związanych z rozwojem i aktywacją poszczególnych subpopulacji limfocytów T, w tym IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, IL21, IL22, IL-23, IL25, IL-31, IL-33, sCD40L, TNF- α i IFN- γ . Pomiaru dokonano testem opartym o system macierzy zawieszinowych. Otrzymane wyniki zostały przeanalizowane w porównaniu z aktywnością choroby mierzoną za pomocą skali SLEDAI oraz rSLEDAI, a także funkcją filtracyjną nerek i wskaźnikiem stanu zapalnego – białkiem C-reaktywnym.

W grupie kontrolnej zaobserwowano ponad trzykrotnie wyższy odsetek oraz ponad dwukrotnie wyższą liczbę bezwzględną komórek regulatorowych o fenotypie CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ w porównaniu z grupą badaną ($p < 0,001$). Zaobserwowano także istotną ($p = 0,031$) odwrotną korelację liczby bezwzględnej limfocytów CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ z wartościami współczynnika SLEDAI (współczynnik korelacji – 0,294). W grupie, w której nie obserwowano objawów nerkowych (rSLEDAI = 0), wykazano istotnie wyższy odsetek komórek regulatorowych o fenotypie CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ w porównaniu z grupą z aktywnym LN ($p = 0,033$). Istotną statystycznie różnicę odnotowano również w zakresie bezwzględnej liczby komórek regulatorowych, mierzonych ekspresją czynnika Foxp3. W grupie chorych z wysoką aktywnością choroby stwierdzono prawie o 30% mniej komórek regulatorowych w porównaniu z grupą, w której rSLEDAI był równy 0 ($p = 0,045$).

W grupie badanej wykazano statystycznie niższe wartości liczbowe komórek regulatorowych o fenotypie CD4⁺CD25⁺CD127⁻, zarówno w odsetku ($p < 0,001$), jak i bezwzględnej liczbie ($p = 0,014$) w porównaniu z grupą kontrolną.

Zaobserwowano istotne statystycznie, pozytywne korelacje pomiędzy liczbą bezwzględną komórek regulatorowych o fenotypie CD4⁺CD25⁺CD127⁻ oraz CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺. Współczynnik korelacji dla grupy badanej wynosił 0,362 a w grupie kontrolnej 0,674.

Wykazano statystycznie istotną różnicę wartości stosunku komórek regulatorowych do komórek Th17 pomiędzy grupą badaną i grupą kontrolną. W grupie badanej zaobserwowano ponad dwukrotnie niższą wartość stosunku Treg/Th17 w porównaniu do grupy kontrolnej ($p < 0,001$).

W grupie badanej stwierdzono ponad dwukrotnie wyższy odsetek limfocytów CD3⁺CD8⁺CD28⁻ ($p < 0,001$) oraz ponad trzykrotnie wyższą liczbę bezwzględną tych komórek ($p < 0,001$) w porównaniu z grupą kontrolną.

Istotnie niższy odsetek komórek regulatorowych o fenotypie CD3⁺CD8⁺CD28⁻ był widoczny w grupie z nieaktywną chorobą (SLEDAI < 5) w porównaniu z grupą aktywną (SLEDAI \geq 5) ($p = 0,022$). Zaobserwowano także istotne różnice w liczbie bezwzględnej limfocytów

CD3⁺CD8⁺CD28⁻, których niższa liczba była charakterystyczna dla pacjentów z niską aktywnością choroby (p = 0,039).

U pacjentów z grupy badanej wykazano istotnie statystycznie wyższe stężenia IL-31, IL-33 oraz sCD40L porównaniu z grupą kontrolną (p odpowiednio 0,019, 0,029 i 0,021). Wykazano także korelację pomiędzy stężeniem IL-6 i CRP (rs = 0,367).

Na podstawie przeprowadzonych badań oraz analizy statystycznej wysunięto następujące wnioski:

1. Zmniejszanie liczby komórek regulatorowych o fenotypie CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ jest obiecującym wskaźnikiem aktywności TRU, a w szczególności wystąpienia zajęcia nerek.
2. Przydatność określania komórek regulatorowych przy pomocy fenotypu CD4⁺CD25⁺CD127⁻ jest ograniczona u osób chorych na TRU.
3. Nie potwierdzono obecności czynnika Foxp3 w populacji komórek CD3⁺CD8⁺CD28⁻, co wyklucza ich regulacyjny potencjał.
4. Zwiększenie liczebności limfocytów o fenotypie CD3⁺CD8⁺CD28⁻, związane z obecnością choroby oraz zaostrzeniem aktywności TRU wskazuje na możliwość ich wykorzystania w diagnostyce.
5. Liczebności populacji komórek Th17 i Tc17 nie są czynnikami różnicującymi, potwierdzono natomiast znaczenie diagnostyczne zaburzonego stosunku Treg/Th17.
6. Istotnie diagnostycznie w badanej grupie okazały się jedynie stężenia cytokin IL-31, 33 oraz sCD40L.