

Załącznik:

Streszczenie pracy doktorskiej z akceptacją promotora

Makrofagi są jednymi z najważniejszych komórek uczestniczących w inicjacji i regulacji odpowiedzi immunologicznej, a ponadto są najbardziej heterogenną populacją leukocytów. Makrofagi są komórkami uczestniczącymi w odpowiedzi wrodzonej, co związane jest z ich zdolnością do fagocytozy, produkcji tlenu azotu, wolnych rodników tlenowych oraz do chemotaksji. Ponadto są zdolne do sekrecji zarówno cytokin pro- jak i przeciwzapalnych, co związane jest z ich zdolnością do polaryzacji. Makrofagi są zdolne do polaryzacji w kierunku M1 (klasycznie spolaryzowane makrofagi prozapalne) oraz M2 (alternatywnie spolaryzowane makrofagi przeciwzapalne, uczestniczące w regeneracji tkanek). Makrofagi są również ważnym pomostem łączącym odpowiedź wrodzoną z odpowiedzią nabytą, ponieważ są komórkami prezentującymi antygen limfocytom.

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu lipopolisacharydu (LPS), cytokin (rekombinowanego interferonu gamma (rIFN- γ 2) i interleukiny 4/13B (IL-4/13B)), hormonów steroidowych (kortyzolu oraz 17 β -estradolu (E2)), a także proestrogennych związków endokrynnie czynnych (EDC, ang. endocrine disruptors compounds) - 17 α -etynyloestradolu (EE2) i 4-*tert*-oktylofenolu (4-*tert*-OP) na aktywność/polaryzację makrofagów i przebieg reakcji zapalnej u karpia (*Cyprinus carpio* L.).

Wykazano, że po stymulacji LPS oraz rIFN- γ 2+LPS makrofagi karpia są zdolne do polaryzacji w kierunku prozapalnych komórek M1. Komórki te wykazują zwiększoną ekspresję mediatorów prozapalnych (*inos*, *il-1 β* , *il-12p35*, *cxc1-2*, *cxc18_11*) oraz produkują tlenek azotu. Z kolei stymulacja IL-4/13B powoduje alternatywną (M2) polaryzację makrofagów, co związane jest ze zwiększoną ekspresją *arginazy 2* i przeciwzapalnej *il-10*. Z kolei potraktowanie makrofagów w warunkach *in vitro* kortyzolem powoduje repolaryzację makrofagów M1 i obniżenie stymulowanej LPS ekspresji mediatorów zapalenia. Natomiast w warunkach *in vivo* stres unieruchomienia nie wpływa na ekspresję markerów polaryzacji M1, ale zwiększa ekspresję markerów polaryzacji M2. Zaobserwowano również, że ważnym mechanizmem uczestniczącym w repolaryzacji monocytów/makrofagów karpia są wewnątrzkomórkowe przemiany kortyzolu i zależna od nich produkcja IL-10. Stwierdzono także, że potraktowanie makrofagów karpia *in vitro* E2 odwraca prozapalne działanie LPS, obniżając jednak zarówno ekspresję markerów polaryzacji M1 jak i M2. Natomiast w warunkach *in vivo*, karmienie ryb dietą wzbogaconą w E2 powoduje zwiększenie ekspresji mediatorów przeciwzapalnych, a w konsekwencji ograniczenie stanu zapalnego wywołanego dootrzewnowym podaniem bakterii *Aeromonas salmonicida*. Z kolei potraktowanie *in vitro* makrofagów EE2 oraz 4-*tert*-OP w wysokiej dawce hamuje odpowiedź komórkową poprzez obniżenie ekspresji genów z nią związanych (*il-12p35*, *cxc2*, *ifn- γ 2*). Także w warunkach *in vivo* u ryb karmionych zarówno EE2 oraz 4-*tert*-OP wykazano upośledzenie odpowiedzi komórkowej związanej z limfocytami Th1 co manifestowało się obniżeniem ekspresji *ifn- γ 2* i *il-12p35*. Natomiast u ryb karmionych EE2 zaobserwowano zaburzenia reakcji immunologicznej prowadzące do wydłużenia i zaostrzenia przebiegu infekcji bakteryjnej.

Podsumowując w obecnej pracy doktorskiej wykazano, że zarówno cytokiny, hormony steroidowe i proestrogenne EDC regulują polaryzację/aktywność monocytów/makrofagów karpia, a zjawisko to jest zależne od stężenia tych czynników oraz czasu ich działania. Ponadto zaobserwowano, że w przypadku wywołanej cytokinami polaryzacji klasycznej i alternatywnej, makrofagi zmieniają metabolizm wewnątrzkomórkowego kortyzolu, który za pośrednictwem intrakryny interakcji z receptorami dla glikokortykoidów reguluje produkcję IL-10.

Wyniki obecnej pracy potwierdzają więc istnienie ewolucyjnie konserwatywnych interakcji pomiędzy układami hormonalnym i odpornościowym. Przypuszczamy, że tego typu interakcje są ważnym elementem regulacji reakcji zapalnej, pozwalającym na efektywną eliminację patogenu i ograniczającym uszkodzenie własnych tkanek gospodarza. Wydaje się również, że proestrogenne EDC, za pośrednictwem obecnych na/w makrofagach receptorów estrogenowych zaburzają przebieg reakcji odpornościowej. Jest to informacja niezwykle ważna w kontekście wzrastającego zanieczyszczenia wód tego typu substancjami.



