

Streszczenie

U osób cierpiących na AITDs kluczowe znaczenie ma nietolerancja organizmu na własne tkanki wywołana zakłóceniem funkcji limfocytów T. W przebiegu AITDs istotną rolę odgrywają mediatory zapalne, których nadprodukcja przyczynia się do utrzymującego się permanentnie stanu zapalnego i generowania RFT. Do AITDs należą GD i HT, które manifestują się dwoma przeciwstawnymi klinicznie stanami, odpowiednio: nadczynnością i niedoczynnością tarczycy. W rozwoju AITDs kluczowa jest infiltracja tarczycy przez limfocyty T a także B, które produkują autoprzeciwciała przeciw autoantygenom tarczycy. Dodatkowo w HT limfocyty T indukują apoptozę tyreocytów i prowadzą do destrukcji tarczycy. Kliniczna manifestacja autoimmunizacji tarczycy w kierunku obrazu fenotypowego GD lub HT zależy od przesunięcia równowagi odpowiedzi immunologicznej typu Th1 lub Th2, i co za tym idzie profilu cytokin, który dominuje w mięszu tarczycy. Limfocyty Th1 produkują cytokiny, które prowadzą do aktywacji makrofagów i efektów cytotoksyczności, a limfocyty Th2 wydzielają cytokiny, które mogą hamować aktywność Th1 i stymulują limfocyty B do produkcji autoprzeciwciał.

Aktywność limfocytów oraz komórek NK może być modulowana przez różne czynniki, w tym poprzez interakcję z płytkami krwi. Płytki krwi wykazują funkcje komórek efektorowych w procesach immunologicznych. Aktywnie uczestniczą w reakcjach zapalnych poprzez oddziaływanie na komórki układu immunologicznego. W stanach zapalnych zaktywowane płytki krwi wydzielają związki, które determinują selektywną rekrutację limfocytów. Płytki krwi zwiększają adhezję limfocytów T do śródbłonka i aktywnie uczestniczą w powstawaniu LPA. Pobudzone płytki krwi są źródłem wielu cząsteczek inicjujących tworzenie się LPA, które mogą stanowić pośredni etap w rozwoju stanu zapalnego w obrębie śródbłonka. Interakcje płytkowo-limfocytarne prowadzą do wzrostu produkcji cytokin zapalnych i czynników prozakrzepowych i są przyczyną podwyższonego ryzyka rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego, występującego u pacjentów z AITDs.

Celem badań w pracy doktorskiej było określanie stanu czynnościowego płytek krwi i limfocytów u osób z HT i GD. Przeprowadzono analizę odpowiedzi płytek krwi na działanie typowych fizjologicznych agonistów oraz poziomu aktywacji limfocytów poprzez immunoenzymatyczny pomiar stężenia cytokin prozapalnych w osoczu. Poddano analizie poziom markerów stresu oksydacyjnego u chorych na AITDs. Oceniono poziom kluczowych

markerów aktywacji płytek krwi oraz aktywność szlaku CD40/CD40L odpowiedzialnego za interakcję płytek z limfocytami. Określono ilościowy i jakościowy udział subpopulacji limfocytów biorących udział w interakcjach z płytkami krwi i tworzeniu LPA. Zbadano budowę morfologiczną i ultrastrukturę powstających LPA. Oceniono poziom migracji limfocytów względem płytek krwi u pacjentów z AITDs. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że płytki krwi pochodzące od pacjentów z AITDs wykazują zwiększony stopień aktywacji oraz wyższą reaktywność w odpowiedzi na działanie agonistów, co jest czynnikiem sprzyjającym ich oddziaływaniu z komórkami układu immunologicznego. Zwiększony poziom markerów stresu oksydacyjnego w osoczu i płytkach krwi pacjentów z AITDs wpływa na zmiany aktywności i funkcji płytek, co manifestuje się zaburzeniami w układzie hemostazy. Ponadto, wykazano wzmożoną aktywność szlaku (CD40/CD40L) odpowiedzialnego za interakcję płytek krwi z limfocytami oraz koaktywację limfocytów B do produkcji przeciwciał. Wykazano zwiększony potencjał chemotaktyczny płytek krwi w stosunku do limfocytów, co stanowi czynnik ułatwiający rekrutację do miejsc ich interakcji. W ocenie prozapalnej aktywności komórek odpornościowych, na podstawie osoczowego stężenia mediatorów zapalnych typu Th1 (IL-2, TNF- α , IFN- γ) wspomagających odpowiedź typu komórkowego, stwierdzono, że dominującym udziałem limfocytów Th1 w odpowiedzi immunologicznej charakteryzuje się HT. Natomiast oznaczenie odsetkowej zawartości subpopulacji limfocytów w krwi obwodowej wykazało podwyższony odsetek subpopulacji limfocytów Th (CD3/CD4-pozytywnych) u pacjentów GD oraz obniżoną zawartość procentową wszystkich pozostałych subpopulacji limfocytów (Tc, Treg, NK), względem grupy kontrolnej, co prawdopodobnie może wynikać ze zwiększonej odpowiedzi humoralnej (typu Th2) związanej z aktywacją limfocytów B.

Uzyskane wyniki wykazały wzmożoną aktywację płytek oraz limfocytów krwi obwodowej w AITDs i wskazują na interakcje tych komórek, które poprzez tworzenie kompleksów LPA, mogą uczestniczyć w patogenezie AITDs i mieć istotny wpływ na zaburzenia układu hemostazy.

Tomoya Inaba
Autopost

Summary

Intolerance on the body's own tissues caused by the disturbance of the T-cell function is of central importance problem in autoimmune thyroid diseases (AITDs). The overproduction of inflammatory mediators plays an essential role in the course of AITDs, which contributes to the chronic inflammation and excessive production of ROS. AITDs include two diseases: Graves' disease (GD) and Hashimoto's Thyroiditis (HT), which appear through two clinically opposite illness hyperthyroidism and hypothyroidism, respectively. In the development of AITDs, a thyroid infiltration by T-cells and B-cells (which produce autoantibodies against thyroid autoantigens) is central importance. In addition, in HT, T-cells activity leads to apoptosis of thyrocytes and the thyroid gland destruction. The thyroid autoimmunity appears through two major clinical manifestations: GD or HT and depends on the Th1 or Th2 immune response and the profile of cytokines that outbalances in the thyroid gland. The Th1 cells produce cytokines, that promote the activation of macrophages and cytotoxicity effects, and Th2 cells which produce cytokines inhibiting Th1 cells activity and stimulating B-cells to production of autoantibodies.

The activity of lymphocytes and NK cells can be modulated by various factors, including interaction with platelets. Platelets are also effector cells in immunological processes. Platelets participate in inflammatory reactions by affecting the immune system cells. In inflammation, activated platelets release various mediators that determine the selective recruitment of lymphocytes. Platelets enhance the adhesion of T-cells to the endothelium and actively participate in the formation of LPA. Stimulated platelets release many factors that induce the formation of LPA, which may be an intermediate stage in the development of inflammation within the endothelium. Platelet-lymphocyte interactions lead to enhance the production of inflammatory cytokines and prothrombotic factors and are the cause of an increased risk of cardiovascular disease development in patients with AITDs.

The aim of this PhD thesis was to determine the functional status of platelets and lymphocytes in patients with HT and GD. The analysis of platelet responses to the classic physiological agonists and the level of lymphocyte activation, by the immunoenzymatic measurement of cytokine concentrations in plasma was performed. Also, the level of oxidative stress markers in patients with AITDs, was determined. The concentrations of typical markers of platelet activation and the activity of the CD40/CD40L pathway, which is

responsible for the interaction of platelets with lymphocytes, were assessed. Quantitative and qualitative participation of lymphocyte subpopulations participating in interactions with platelets and LPA formation was determined. The morphology and ultrastructure of LPA were analyzed as well as the level of the lymphocyte migration towards platelets of patients with AITDs was investigated. Conducted experiments, showed the increased platelet activation and their hyperreactivity in response to the classic physiological agonists. This can cause enhanced interaction of platelets with the immune cells in patients with AITDs. A higher level of oxidative stress markers in the plasma and blood platelets in patients with AITDs affects in changes in platelet activity and function, which can manifest as disorders in the hemostasis system. In addition, increased activity of the pathway (CD40/CD40L) responsible for the interaction of platelets with lymphocytes and coactivation of B-cells to antibody production, was demonstrated. The increased chemotactic potential of platelets in relation to lymphocytes, which facilitates their recruitment to their interaction places, has been also confirmed. The assessment of the proinflammatory activity of immune cells, based on the plasma concentrations of Th1-type inflammatory mediators (IL-2, TNF- α , IFN- γ) participate in cellular immune responses, showed the dominant proportion of Th1 cells in the immune response in HT. While, the quantitative and qualitative analysis of lymphocyte subpopulations in peripheral blood in GD, showed an increased percentage of Th cell subpopulation (CD3/CD4-positive) and a reduced percentage of all other lymphocyte subpopulations (Tc, Treg, NK), relative to the control group. Most likely, this is due to the increased humoral immune response (Th2 type) in GD, associated with the activation of B-cells.

The obtained results showed the increased activation of platelets and peripheral blood lymphocytes in AITDs. On the basis of conducted experiments, it has been proved the interaction of blood platelets with lymphocytes, which by the formation of LPA complexes, can participate in the pathogenesis of AITDs and have a significant role in the development of disorders in the hemostasis system.

*Tomoyuki
Matsumoto*