

Znaczenie IL-33 w monitorowaniu funkcji barierowej nabłonka ołdkowego oraz regulacji procesów zapalnych wzbudzanych przez miejscowe patogeny bakteryjne oraz czynniki pokarmowe i farmakologiczne.

Komórki nabłonkowe ołdka i jelit tworzą wybiórczo przepuszczalną barierę oddzielającą środowisko zewnętrzne od narządów wewnętrznych. Bariera ta pełni rolę ochronną przed szkodliwymi cząsteczkami i patogenami, a jednocześnie nie pozwala na wydajny transport składników pokarmowych. Nabłonek ołdkowy jest nabłonkiem jednowarstwowym walcowatym, który tworzy rodzaj zbitej powłoki pokrytej od zewnętrznej strony błazną. Występuje w błaznie mucynowej wraz z patogenami przez cząsteczki cukrów, hamując ich adhezję do nabłonka, a tym samym zapobiegając rozwojowi zakażenia. Ważną rolę w utrzymaniu integralności bariery nabłonkowej odgrywają białka spajające błony śluzowe komórek takie jak okludyna, kładyna i białka adhezyjne. Białka te warunkują szczelność bariery nabłonkowej i jednocześnie regulują podziały komórek i ich różnicowanie się. Dla prawidłowego działania bariery nabłonkowej ołdka ważnym jest utrzymanie równowagi pomiędzy podziałami komórkowymi a ich obumieraniem. Nadmierne tempo podziałów może zwiększać ryzyko mutacji i rozwoju nowotworów. Natomiast jego osłabienie może być przyczyną hamowania procesu gojenia uszkodzonej tkanki ołdka. Wzrost komórek nabłonkowych jest kontrolowany przez wiele czynników wydzielanych miejscowo lub dokrewnie. Działanie ochronne mają prostaglandyny, które chronią błaznę ołdka, zmniejszają ciśnienie kwasu i regulują wydzielanie kwasu oraz ukrwienie.

Do niedawna uważano, że ołdek jest środowiskiem wolnym od drobnoustrojów ze względu na kwaśne pH. Jednak obecnie wiadomo, że niektóre drobnoustroje mogą w takim środowisku przetrwać, a nawet dzielić się. Najlepiej przystosowane do zasiedlenia nabłonka ołdkowego są pałeczki *Helicobacter pylori*. Główną rolę w rozwoju zakażenia odgrywa przyleganie tych bakterii do nabłonka ołdka. Proces ten jest warunkowany przez cząsteczki powierzchniowe o charakterze adhezyjnym takie jak SabA wraz z kwasem sialowym SabA (sialic acid-binding adhesin), BabA wraz z antygenem grupowym krwi (blood group antigen binding adhesin) oraz błonowe białko zapalne OipA (outer inflammatory protein). Cząsteczki te są rozpoznawane przez receptory komórek nabłonkowych. Uszkodzenie tych komórek przez czynniki *H. pylori* lub antygeny pochodzące z ich rozpadu jest przyczyną rozwoju reakcji zapalnej, która polega na gromadzeniu się w miejscu uszkodzenia komórek odpornościowych. W pierwszej kolejności napływają neutrofile przyciągane przez rozpuszczalne cząsteczki tzw. cytokiny m.in. interleukin (IL)-8. Granulocyty obojętne są komórkami odporności wrodzonej i charakteryzują się silną zdolnością pochłaniania i niszczenia czynników zakaźnych. Mimo to neutrofile produkują reaktywne formy tlenu, nie są one skuteczne w niszczeniu bakterii zamkniętych wewnątrz komórki, lecz są wydzielane na zewnątrz, gdzie niszczą tkanki. Cytokiny prozapalne wydzielane w nadmiarze mogą niszczyć białka tworzące spoiwo komórek nabłonkowych.

Błazna ołdka jest ekspozycja na działanie czynników pokarmowych, a także leków. Niesteroïdowe leki przeciwzapalne, do których należy kwas acetylosalicylowy (ASA), znany jako aspiryna, są powszechnie stosowane do zwalczania bólu, reakcji zapalnej oraz gorączki. Pacjenci z chorobami niedokrwiennymi serca otrzymują niskie dawki aspiryny, jako lek przeciwzakrzepowy. Aspiryna działa drażniaco na nabłonek ołdka, zwiększając ryzyko wystąpienia nadżerek i wrzodów ołdka. Prawdopodobnie hamuje proces naprawy uszkodzonego nabłonka, ponieważ zakażenie *H. pylori* bardzo często powoduje powstawanie wrzodów ołdka i w związku z tym może na przypuszczać, że takie uszkodzenia komórek nabłonkowych mogą zwiększać się wskutek przyjmowania aspiryny. Nie można na to wykluczyć, że uszkodzenia spowodowane przez aspirynę mogą sprzyjać zakażeniu *H. pylori*. Stabilność bariery nabłonkowej ołdka może zostać zaburzona przez czynniki pokarmowe. Na szczególne uwagi zasługują lipidy, zwłaszcza cholesterol, które mogą inicjować reakcję zapalną w przewodzie pokarmowym. W nabłonku ołdka powstają wyspy lipidowe, w skład których wchodzi lipoproteina o niskiej gęstości (LDL, low density lipoprotein) w formie utlenionej. Podwyższone stężenie LDL jest związane ze wzrostem typowych cytokin prozapalnych takich jak TNF-alfa i IL-6. Warto także zaznaczyć, że lipidy pokarmowe mogą lokalnie nasilać proces zapalny i przyczyniać się do rozwoju zmian nowotworowych. Można przypuszczać, że uszkodzenia nabłonka ołdka spowodowane przez pałeczki *H. pylori* mogą być pogorszone przez leki, a także lipidy pokarmowe. Z uszkodzonych komórek nabłonkowych są wydzielane cząsteczki stanowiące wzorce molekularne związane z uszkodzeniem tzw. DAMPs (damage-associated molecular patterns), które pełni rolę sygnałów alarmujących o zaburzeniu homeostazy. Do DAMPs należą m.in. białko szoku cieplnego, fibronektyna, fibrynogen, dwuniciowe i mitochondrialne DNA, ATP, białko o wysokiej ruchliwości typu 1 (HMGB-1 - high mobility group box-1), IL-1 alfa, a także IL-33. Poziom IL-33 wyraźnie nie wzrasta przy uszkodzeniu bariery nabłonkowej ołdka i podczas infekcji. Cytokina ta jest wytwarzana głównie przez komórki nabłonkowe oraz ród nabłonka naczyń. Działa jak tradycyjna cytokina lub jako czynnik wewnątrzkomórkowy regulujący transkrypcję. Sugeruje się, że podczas zakażenia *H. pylori* jej wytwarzanie może być hamowane. Ze względu na promowanie przez IL-33 odpowiedzi z udziałem limfocytów pomocniczych typu Th2, obniżenie stężenia tej cytokiny może odgrywać istotną rolę w indukcji odpowiedzi limfocytów pomocniczych typu Th1 podczas zakażenia *H. pylori*.

Obecna wiedza na temat procesów zachodzących w nabłonku ołdka pod wpływem kwasu acetylosalicylowego oraz lipidów pokarmowych, przy współistnieniu miejscowego zakażenia *H. pylori* jest niewystarczająca. Dlatego w tym projekcie chcemy zbadać wpływ chorobotwórczych pałeczek *H. pylori* zasiedlających trwale nabłonek ołdka ludzi oraz utlenionej frakcji lipoproteiny o niskiej gęstości, jak jest 7-ketocholesterol, a także kwas acetylosalicylowy na stabilność komórek nabłonkowych typu ołdkowego, na modelach komórkowych *in vitro*. Funkcje komórek nabłonkowych chcemy ocenić na podstawie ich przylegania do podłoża, ekspresji białek cisłych połączeń, szczelności nabłonka, pomiaru oporności, przepływu jonów, cyklu komórkowego, objawów nekrozy i apoptozy. Ocenimy czy zaburzenia funkcji komórek nabłonkowych skutkują wydzielaniem alarmowej IL-33 i cytokin prozapalnych oraz adhezyjny ICAM-1 (intercellular adhesion molecule 1) pełniąc ważną rolę w interakcjach z komórkami odpornościowymi. IL-33 prawdopodobnie odpowiada za mobilizację i aktywację granulocytów. Stosując podwójny system hodowli komórkowych, zawierających komórki nabłonkowe oraz granulocyty izolowane z krwi obwodowej osób zdrowych, chcemy zbadać czy w środowisku antygenów *H. pylori*, lipidów pokarmowych oraz ASA i IL-33 granulocyty będą przemieszczały się w stronę komórek nabłonkowych. Na podstawie wytwarzanej przez granulocyty mieloperoksydazy ocenimy ich stopień aktywacji. Zbadamy także, jak IL-33 wpływa na zdolność granulocytów i makrofagów do pochłaniania i eliminacji pałeczek *H. pylori*.

Zaplanowane badania mają charakter nowatorski. Pozwolą wyjaśnić, jak działają na komórki nabłonkowe ołdka wybrane antygeny *H. pylori* w środowisku lipidów pokarmowych oraz kwasu acetylosalicylowego. Czy efekty wywołane przez czynnik zakaźny mogą być nasilane przez leki i składniki lipidowe diety. Czy mechanizm mobilizacji komórek odpornościowych

pierwszej linii obrony jakimi s granuloocyty (odgrywaj ce kluczow rol w rozwoju reakcji zapalnej podczas zaka e *H. pylori*) jest zale ny od IL-33. Chcemy wiedzie czy cytokina ta nasila, czy przeciwnie hamuje aktywno bakteriobjcz granuloocytów i makrofagów wobec pałeczek *H. pylori*. Badania te pozwol przybli y zrozumienie przyczyn przewlekłego charakteru zaka e *H. pylori*, a tak e wykaza mo liwe zale no ci pomi dzy miejscow reakcj zapaln w nabłonku oł dka a nasileniem reakcji zapalnej ogólnoustrojowej. Ten aspekt bada jest szczególnie ciekawy, poniewa wielu badaczy wskazuje, i przewlekłe zaka enie *H. pylori* mo e przyczynia si do rozwoju choroby niedokrwiennej serca. Niezale nym czynnikiem ryzyka tej choroby jest podwy szony poziom lipoproteiny o niskiej g sto ci, której forma utleniona zostanie u yta w obecnych badaniach. Warto równie podkre li , i zarówno pałeczki *H. pylori*, jak i lipidy pokarmowe maj zwi zek z rozwojem nowotworów.