

Ciąża dla organizmu matki jest ogromnym wyzwaniem. Przez 280 dni u ludzi i 21 dni u myszy układ odpornościowy matki musi akceptować antygenowo obcy płód i w tym samym czasie przeciwdziałać i skutecznie bronić się przed patogenami zagrażającymi zarówno matce, jak i jej nienarodzonemu dziecku. Akceptacja płodu (tolerancja) przez układ odpornościowy matki rozpoczyna się bardzo wcześnie, bo już na etapie zapłodnienia, kiedy to dochodzi do kontaktu maczynych komórek układu odpornościowego z antygenami ojca.

Zaburzenia ciąży takie jak poronienia i stan przedrzucawkowy powiązane są z zakłóconymi mechanizmami tolerancji immunologicznej. Problem poronień dotyka około 1% wszystkich kobiet. Natomiast spontaniczne poronienia występują w przedziale od 11-20% wszystkich ciąż. Podaje się, że do utraty 30% z nich dochodzi już pomiędzy okresem implantacyjnym, a szóstym tygodniem ciąży. Najbardziej niepokojące są przypadki osób u których nigdy nie doszło do szczęśliwego rozwiązania i u których w podobnym przedziale czasowym dochodziło do utraty ciąży. Niektóre z tych przypadków przypisuje się do takich czynników jak wady anatomiczne, zaburzenia hormonalne, wiek czy choroby genetyczne. Problem nawracających poronień nadal należy do nierozwiązanych, a ponad 50% utraty ciąż nie miało wyraźnie zdefiniowanej przyczyny. Badania wskazują, że znacząca część tych poronień ma podłoże immunologiczne. Mechanizmy leżące u podstaw tego zjawiska są wciąż słabo poznane. Badacze przypuszczają, że odpowiedzialne za to może być nieprawidłowe funkcjonowanie komórek układu odpornościowego.

Wśród jak dotąd poznanych typów komórek, czynników immunologicznych i rozpuszczalnych cząsteczek regulatorowych odpowiadających za obwodową tolerancję immunologiczną na antygeny płodu zarówno u myszy jak i ludzi, obecnie uważa się limfocyty T regulatorowe. Dowiedziono, że u ludzi jak i u myszy już na bardzo wczesnym etapie prawidłowej ciąży dochodzi do wzrostu liczby komórek regulatorowych, zarówno w doczesnej jak i krwi obwodowej. Natomiast spadek ich liczby oraz aktywności jest obserwowany w przypadkach spontanicznych poronień. Całkiem niedawno dowiedziono, że również komórki B regulatorowe mogą brać udział w utrzymaniu ciąży. Obie populacje komórek są w stanie wydzielać cytokiny przeciwzapalne (min. IL-10, TGF- β), które hamują odpowiedź immunologiczną matki wobec rozwijającego się płodu. Badania prowadzone u kobiet ciężarnych wykazują analogiczne jak w modelach zwierzęcych zależności. Sugeruje to iż mechanizmy mogące wpływać na tolerancję ciąży są podobne u ludzi i myszy, a niedostatek komórek regulatorowych może prowadzić do jej utraty.

Ze względów etycznych większość doświadczeń mających na celu wyjaśnienie skomplikowanych mechanizmów prowadzących do tolerancji płodu w ciąży przeprowadza się na modelach zwierzęcych. Najlepiej poznany jest mysi model ciąży zagrożonej poronieniem, który charakteryzuje się między innymi wzrostem śmiertelności płodów, a także spadkiem ilości aktywnych limfocytów Treg w porównaniu do modelu ciąży prawidłowej.

Nasze wstępne badania na wspomnianym powyżej modelu ciąży zagrożonej poronieniem wykazały wzrost ekspresji genu dla receptora toll-podobnego 9 (ang. Toll-like receptor 9, TLR9) na śledzionowych limfocytach B u ciężarnych samic w okresie przed implantacją zarodka w macicy. Receptory te, oprócz charakterystycznych dla patogenów wzorców mogą rozpoznawać sygnały pochodzenia wewnętrznego, wśród których szczególnie w kontekście ciąży, mogą być rozpatrywane antygeny ojca (np. DNA obecne w nasieniu). Receptory toll-podobne obecne na limfocytach B mogą prowadzić między innymi do aktywacji tych limfocytów objawiającej się wzmożoną ekspresją cytokin, zarówno pro- jak i przeciwzapalnych.

Głównym celem naukowym projektu jest sprawdzenie czy zależna od receptora TLR9 regulacja aktywności komórek B regulatorowych może być odpowiedzialna za rozwój tolerancji maczyno-płodowej. Hipoteza badawcza zakłada, że u kobiet u których dochodzi do poronienia (w nieprawidłowo rozwijającej się ciąży) i w mysim modelu ciąży zagrożonej poronieniem dochodzi do zmiany ekspresji receptora TLR9 na limfocytach B, co prowadzi do niekorzystnego fenotypu kostymulacyjnego tych komórek i profilu wydzielanych cytokin, czego konsekwencją mogą być poronienia.

W projekcie planujemy sprawdzić ekspresję receptora TLR9 na wybranych subpopulacjach limfocytów B we krwi pacjentek w ciąży prawidłowej i u pacjentek ze spontanicznym i nawracającymi poronieniami. Zbadany zostanie u nich odsetek limfocytów Breg, poziom cząsteczek kostymulacyjnych i MHC klasy II na limfocytach B, którą powiążemy z ilością receptora TLR9 na tych samych komórkach. Zostanie również zweryfikowany procent limfocytów T cytotosycznych, T pomocniczych oraz NK we krwi, a także stężenie hormonów w surowicy i poziom cytokin pro- i przeciwzapalnych. Ma na celu określenie korelacji pomiędzy ich ilością/poziomem, a ilością limfocytów Breg.

Zaproponowane w projekcie badania przyczynią się przede wszystkim do lepszego poznania roli jaką mogą pełnić limfocyty Breg w ciąży. Możliwe będzie również wykorzystanie w przyszłość receptorów TLR9 limfocytów B jako celów w terapiach, których zadaniem byłoby przywrócenie zaburzonej tolerancji immunologicznej w ciąży. Nasze badania mogą stać się także pomocne w bezpiecznej dla matki i dziecka diagnostyce niekorzystnego statusu immunologicznego matki mogącego prowadzić do wczesnych poronień