

Prawidłowy rozwój antygenowo-swoistej odpowiedzi limfocytów gwarantuje przeżycie organizmu, którego mechanizmy odporności nieswoistej zostały wyczerpane. Zrozumienie mechanizmów kierujących rozwojem tego specyficznego ramienia odporności próbuje się wykorzystać w immunoterapii nowotworów, m.in. projektując szczepionki DNA/mRNA wprowadzające geny dla antygenów nowotworowych. Mimo że badane od dekad, szczepionki przeciwnowotworowe, z kilkoma wyjątkami, wciąż wykazują ograniczony efekt terapeutyczny.

W celu zwiększenia dokładności dostępnej wiedzy dotyczącej dynamiki rozwoju odporności antygenowo-swoistej, w której kluczową rolę odgrywają limfocyty opisane mianem T CD4⁺ oraz B, podczas badań zostanie zaaplikowana nowoczesna technika optycznego oczyszczania węzła limfatycznego. Ponadto, węzeł limfatyczny, z wykorzystaniem odpowiednio dobranego koktajlu związków chemicznych, zostanie kilkukrotnie rozszerzony, „spęcznienie”, aby zwiększyć wielkość badanych komórek, a tym samym precyzję ich zliczania. Dzięki optycznemu oczyszczeniu tkanki, staje się ona przezroczysta, i całkiem penetrowalna światłem lasera mikroskopu. Oznacza to, że od tej pory badać i wnioskować możemy korzystając z danych pozyskanych z całego narządu, a nie tylko bardzo cienkich skrawków histologicznych (cienkich, ponieważ tylko wtedy, bez oczyszczenia, transmitowały one światło lasera mikroskopu). Mając na uwadze najnowsze odkrycia sugerujące znaczny wpływ pory doby na rozwój wtórnej odpowiedzi immunologicznej, zamierzamy zastosować opracowaną technikę obrazowania do zliczenia limfocytów T CD4⁺ i B w 4 punktach czasowych.

Obecnie jasnym się staje również, że funkcja wymienionych limfocytów w dużym stopniu zależy od innych komórek obecnych w węzłach limfatycznych - w szczególności fibroblastycznych komórek siateczkowych (FRC). Dlatego też spojrzenie na FRC, wyspecjalizowane immunologicznie miofibroblasty, które stanowią aż 20-50% komórek niehematopoetycznego przedziału komórkowego w węzłach limfatycznych, szybko zmieniło się z biernych „gapiów” na aktywnych, kluczowych immunomodulatorów odporności wtórnej. Immunomodulująca rola FRC została już opisana na każdym etapie odporności wtórnej, począwszy od jej rozwoju, poprzez utrzymanie i wreszcie zahamowanie proliferacji efektorowych komórek T w obrębie węzłów limfatycznych, co zapobiega uszkodzeniu jego struktury. FRC tworzą wyjątkowo złożoną sieć kierującą proces migracji zarówno leukocytów, jak i rozpuszczalnych antygenów i cząsteczek sygnałowych. Co ciekawe, poprzez ekspresję podoplaniny (PDPN), FRC pozostają w stanie stałego skurczenia, które kompresuje węzły limfatyczne i zmniejsza ich rozmiary w warunkach fizjologicznych. Skurcz ten ulega zahamowaniu po immunizacji, co prowadzi do szybkiego rozluźnienia węzłów limfatycznych (co z kolei odpowiada powiększeniu węzłów obserwowanemu podczas infekcji), który poprzedza i stwarza dodatkową przestrzeń dla następującej szybkiej proliferacji limfocytów. Uderzające jest to, że upośledzenie PDPN u myszy prowadzi do znacznego wzrostu markerów rozwoju wtórnej odpowiedzi immunologicznej.

Podsumowując, w ramach badań zostaną przeprowadzone eksperymenty służące określeniu wpływu rytmu dobowego/pory doby, na rozwój antygenowo-swoistej odpowiedzi immunologicznej związanej z syntezą przeciwciał. W tym celu przezroczyste i rozszerzone węzły limfatyczne zostaną zobrazowane i zanalizowane pod kątem liczby limfocytów T CD4⁺, B oraz FRC, z naciskiem na rozwikłanie ewentualnej zmienności kształtu sieci FRC w ciągu doby.