

Stres immunologiczny prowadzi do zahamowania rozrodu u ludzi i zwierząt, co wskazuje na istnienie wzajemnej komunikacji między układem immunologicznym i rozrodczym. Oddziaływanie pomiędzy tymi układami może zachodzić na różnych piętrach systemu neurohormonalnego zwanego osią podwzgórze - przysadka - gonady (HPG). Uważa się, że komunikacja ta odbywa się w największym stopniu na drodze bezpośredniej, poprzez wspólne ligandy i receptory. Interleukina -1 β (IL-1 β) może być jedną z kluczowych cząstek zaangażowanych w przekazywanie informacji pomiędzy układem immunologicznym i rozrodczym. Interleukina -1 β jest cytokiną o niezwykle plejotropowym działaniu, której obecność stwierdzono także w rejonie ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Zdolność do syntezy tej glikoproteiny posiadają nie tylko komórki układu immunologicznego, ale jej syntezę wykazano także w komórkach OUN takich jak mikroglej, astrocyty, dendrocyty, a nawet niektóre neurony. Wykazano również obecność receptorów IL-1 β właściwie na wszystkich poziomach osi HPG. Obecność receptora IL-1 β typu I(IL-1R1) stwierdzono także na immortalizowanych neuronach GnRH (Gnv-4), co może świadczyć o możliwym bezpośrednim oddziaływaniu IL-1 β na funkcjonowanie tych neuronów. Celem pracy było zbadanie wpływu stresu immunologicznego - dożylniej iniekcji lipopolisacharydu - na układ podwzgórzowo - przysadkowo - gonadotropowy, a także określenie roli IL-1 β w mediacji pomiędzy układami immunologicznym i rozrodczym na poziomie podwzgórze u anestralnych owiec. W prezentowanych badaniach zwierzęciem modelowym była samica owcy w okresie fizjologicznego anestrus. Stres immunologiczny u tych zwierząt wywoływano przez dożylnie podanie endotoksyny bakteryjnej - lipopolisacharydu (LPS). Natomiast IL-1 β podawano bezpośrednio do OUN - iniekcja do III komory mózgu. Stężenie kortyzolu, hormonu luteinizującego (LH), hormonu folikulotropowego (FSH) i prolaktyny w plazmie oznaczono metodą radioimmunologiczną. Obecność IL-1 β w wybranych strukturach mózgu, takich jak okolica przedwzrokowa (POA), przednie podwzgórze (AHA), brzuszno-przyśrodkowe podwzgórze (MBH), wyniosłość przyśrodkowa (ME) i przednia przysadka (AP), oznaczono przy zastosowaniu techniki Western Blot. Zmiany stężenia IL-1 β po obwodowym podaniu LPS oznaczono przy pomocy testu immuno-enzymatycznego (ELISA). Poziomy ekspresji genów kodujących: hormony przysadkowe LH, FSH, prolaktynę i ich receptory; GnRH i jego receptor; IL-1 β i jej receptory; receptor LPS - Toll-podobny receptor 4 (TLR4); receptory: interleukiny -6 (IL-6) oraz czynnika martwicy guza (TNF); oznaczono w POA, AHA, MBH, ME i AP metodą Real-Time PCR. Intensywność translacji GnRH w POA określono przez wyznaczenie rozkładu mRNA dla GnRH po jego rozfrakcjonowaniu w ciągłym gradiencie sacharozy (15 - 50 %). W prezentowanej pracy zaobserwowano, że stres immunologiczny wywołany podaniem LPS oraz iniekcja IL-1 β do III komory mózgu wywołują istotne zmiany w aktywności układu podwzgórzowo-przysadkowo-gonadotropowego u anestralnych owiec. Po podaniu LPS stwierdzono znaczący wzrost poziomu kortyzolu i prolaktyny z jednoczesnym zmniejszeniem stężenia LH we krwi obwodowej. Po podaniu lipopolisacharydu obserwowano zmniejszenie poziomu mRNA dla GnRH i GnRHR w POA i ME oraz spadek poziomu mRNA dla GnRHR w przednim płacie przysadki. Stwierdzono także zmniejszenie ekspresji genu dla LH, LHR oraz zwiększenie ilości mRNA dla FSH, FSHR, prolaktyny oraz PRLR w AP, po obwodowym podaniu LPS. W rejonie podwzgórze stwierdzono także obecność transkryptu IL-1 β oraz receptorów IL-1 β , IL-6 i TNF. Endotoksyna spowodowała zwiększenie ekspresji genów IL-1 β i receptora IL-1 β typu I w POA, AHA, MBH, ME i AP, natomiast wzrost poziomu mRNA dla receptora IL-1 β typu II był obserwowany w wyżej wymienionych strukturach poza AHA. Po obwodowym podaniu LPS stwierdzono także wzrost ilości mRNA dla receptora TNF typu I i receptora IL-6 w POA, AHA, MBH, ME i AP i receptora TNF typu II w AHA i AP. We wszystkich analizowanych strukturach mózgu stwierdzono obecność mRNA dla TLR4, którego poziom znacznie wzrastał po obwodowym podaniu LPS. Stwierdzono także obecność formy pro- oraz formy dojrzałej glikoproteiny - IL-1 β - w rejonie podwzgórze i w przysadce u owiec traktowanych LPS. Po obwodowym podaniu LPS już po 0,5 h następował gwałtowny wzrost

(około 11-krotny) poziomu IL-1 β w płynie mózgowo-rdzeniowym pobranym z III komory mózgu. Iniekcja IL-1 β do III komory mózgu nie spowodowała zmian w obwodowym poziomie kortyzolu, LH, FSH i prolaktyny u anestralnych owiec. Po centralnym podaniu IL-1 β obserwowano natomiast istotny spadek poziomu mRNA dla GnRH w POA i ME oraz obniżenie poziomu mRNA dla GnRH w ME i AP, jak również spadek ekspresji genów LH β i FSH β w AP. Podana centralnie IL-1 β wykazała właściwości autostymulujące, po jej iniekcji stwierdzono wzrost ekspresji genu IL-1 β w POA, MBH i ME. Natomiast zwiększenie ekspresji genu receptora IL-1 β typu I obserwowano tylko w POA i MBH. Po centralnym podaniu IL-1 β stwierdzono także istotne zmniejszenie intensywności translacji GnRH w POA. Otrzymane wyniki wykazały, że stres immunologiczny wywołany podaniem LPS jest silnym modulatorem aktywności osi HPG. Komunikacja między układem immunologicznym a osią HPG zachodzi przy udziale wspólnych dla tych układów ligandów i receptorów. Bardzo ważną rolę w tym procesie odgrywają cytokiny prozapalne takie jak IL-1 β , IL-6 i TNF, gdyż we wszystkich analizowanych strukturach mózgu stwierdzono obecność transkryptu dla ich receptorów. Obecność w rejonie podwzgórza mRNA dla swoistego receptora LPS - Toll-like receptor 4 oraz zmiana jego ekspresji po obwodowym podaniu endotoksyny, pozwalają wnioskować o możliwości bezpośredniego oddziaływania LPS na oś HPG, także na poziomie podwzgórza. Uzyskane wyniki wskazują na ważną rolę IL-1 β w komunikacji pomiędzy układem immunologicznym a neuroendokrynnym odgrywa plejotropowo IL-1 β . Jej oddziaływanie w rejonie podwzgórza powoduje zmiany w sekrecji neuronów GnRH, ukierunkowane na hamowanie posttranskrypcyjnych procesów syntezy GnRH. Uzyskane wyniki wskazują na IL-1 β jako na istotny czynnik hamujący translację tego neurohormonu w perikarionach neuronów GnRH zlokalizowanych w POA. Na podstawie uzyskanych danych można stwierdzić, że komórki OUN mogą być bardzo istotnym, a nawet głównym źródłem IL-1 β obecnej w płynie mózgowo-rdzeniowym. Prawdopodobnie endogenna IL-1 β może być znacznej mierze odpowiedzialna za hamowanie aktywności układu rozrodczego na poziomie podwzgórza. W prezentowanej pracy, po raz pierwszy u owcy, stwierdzono ekspresję genów kodujących receptory LH i FSH w przedniej przysadce, co może wspierać hipotezę o istnieniu i udziale ultra krótkiej pętli sprzężeniowej w regulacji sekrecji LH i FSH na poziomie przysadki. W prezentowanej pracy, także po raz pierwszy w literaturze światowej, wykazano obecność mRNA dla GnRH w ME - strukturze podwzgórza, w której znajdują się zakończenia neuronów GnRH-ergicznyc. Dane te są pierwszym dowodem na to, że w neuronach GnRH może zachodzić zjawisko aktywnego, aksonalnego transportu mRNA kodującego GnRH. Ewentualna lokalna synteza tego neurohormonu w zakończeniach nerwowych może odgrywać istotną rolę w aktywności sekrecyjnej tych neuronów.