

# Cykl dobowy a odporność



Wspierają nas:

Każdy organizm do sprawnego funkcjonowania potrzebuje pozostać w równowadze, to znaczy utrzymać jego homeostazę. Podstawowym procesem pomagającym mu ją zachować jest cykl dobowy. W toku ewolucji i dostosowywania się do świata zewnętrznego, wszystkie organizmy na Ziemi wykształciły mechanizm regulujący rytmy wszystkich procesów zachodzących w organizmie. Odpowiada za nie zegar biologiczny. U ssaków, rytmy biologiczne są generowane w centralnym zegarze biologicznym zlokalizowanym w jądrze nadskrzyżowaniowym (SCN) w przednim podwzgórzu. Oscylatory okołodobowe są obecne także w innych obszarach mózgu, a także w większości tkanek obwodowych, w tym w narządach limfatycznych i białych krwinkach. Jednak aby zegary mogły utrzymywać rytmy okołodobowe na poziomie tkanek, muszą istnieć sygnały synchronizujące. SCN utrzymuje solidną rytmiczność okołodobową w wyniku ścisłego połączenia swoich neuronów. Z drugiej strony tkanki



*W toku ewolucji i dostosowywania się do świata zewnętrznego, wszystkie organizmy na Ziemi wykształciły mechanizm regulujący rytmy wszystkich procesów zachodzących w organizmie.*

obwodowe wymagają sygnałów synchronizujących, a SCN odgrywa w tym względzie istotną rolę, albo przez autonomiczny układ nerwowy, bądź rytmiczne sygnały humoralne, takie jak okołodobowe zmiany poziomów kortyzolu i melatoniny we krwi.

Jednym z układów zachowującym ścisłe powiązania z zegarem biologicznym jest układ odpornościowy (immunologiczny). Jego podstawową funkcją jest skuteczne wykrywanie, identyfikacja oraz likwidacja czynników chorobotwórczych atakujących organizm, takich jak bakterie, grzyby czy wirusy. Procesy te są bardzo skomplikowane i angażują wiele typów komórek. Odporność można podzielić na nieswoistą oraz swoistą.

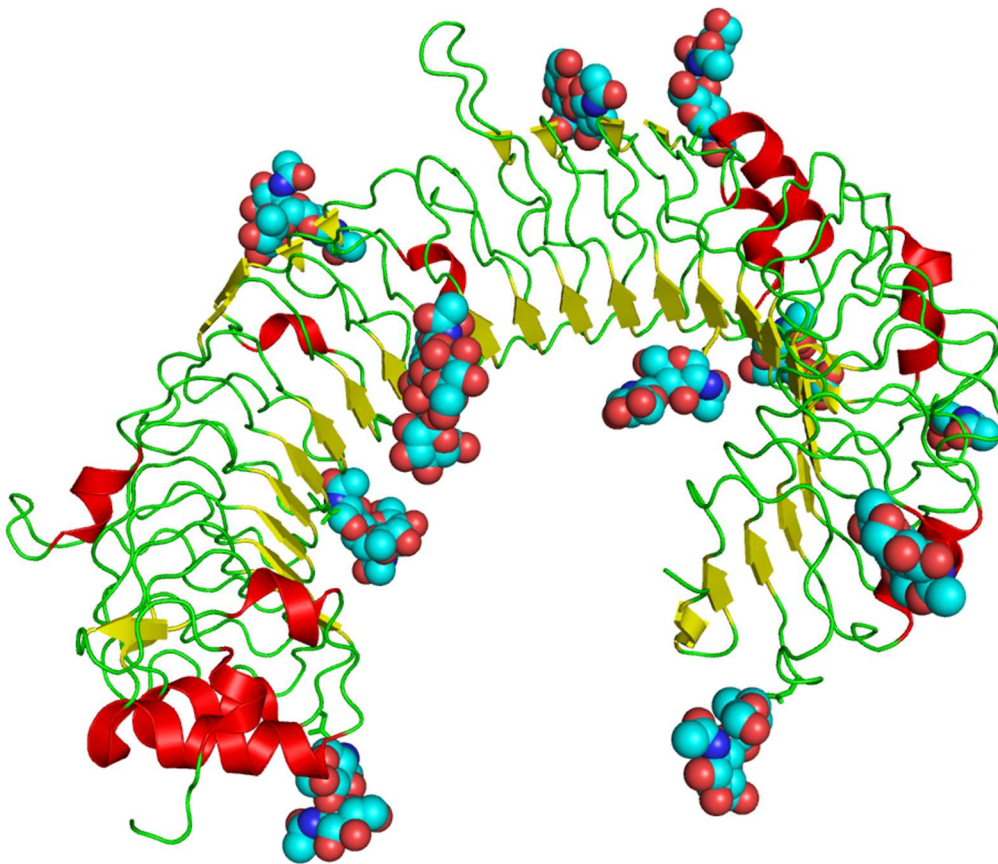
### Rytm w nieswoistej odpowiedzi immunologicznej

Odporność nieswoista, inaczej nazywana jest odpowiedzią wrodzoną. Stanowi ona pierwszą linię obrony przeciw patogenom. Podstawową, a za razem pierwszą barierę fizjologiczną dla drobnoustrojów chorobotwórczych stanowią skóra i błony śluzowe. Zaliczane do nich jest także niskie pH skóry, kwasów żołądkowych oraz naturalna flora bakteryjna występująca w układzie pokarmowym. W sytuacji gdy bariery te zawiodą i patogen przedostanie się do organizmu czekają na niego bardziej wyspecjalizowane i skomplikowane procesy obronne. Do komórek biorących udział w mechanizmach wrodzonych zaliczane są przede wszystkim komórki fagocytyczne, zdolne do pochłaniania obcych substancji i komórek - w tym makrofagi, granulocyty i monocyty, układ dopełniacza oraz szereg mediatorów takich jak cytokiny czy chemokiny. Cytokiny są to cząsteczki o małej masie cząsteczkowej (8-60 kDa) wydzielane przez leukocyty i szereg innych komórek ciała w odpowiedzi na bodźce wewnętrzne i zewnętrzne. Pomagają one w regulacji rozwoju komórek efektorowych układu immunologicznego. Cytokiny wiążą się ze swoistymi receptorami na błonie komórek docelowych, co wywołuje przekształcenie sygnału, która zmienia ekspresję odpowiednich genów w tych komórkach.

Ważnym elementem w rozwoju odpowiedzi nieswoistej są receptory toll-like (TLR). Receptory TLR należą do większej grupy określanej jako PRR (*ang. Pattern recognition receptors*), charakteryzują się one tym, że rozpoznają specjalne, grupowe struktury, charakterystyczne dla danego patogenu. Są to PAMP (*ang. Pathogen associated molecular patterns*). Wzory rozpoznawane przez ten rodzaj receptora obejmują kombinacje cukrów, niektóre białka, zwłaszcza w cząsteczkach lipidów nośnym i niektóre motywy kwasu nukleinowego. Receptory Toll-like pozwalają odróżnić komórki własne organizmu od komórek obcych, patogenów.



Zegar okołodobowy odgrywa rolę w kontroli funkcji wrodzonego układu odpornościowego, o czym świadczą badania przeprowadzone na modelach zwierzęcych z mutacjami genów zegarowych, pokazującymi różne fenotypy związane z odpornością. Ekspozycja na patogeny może być wyższa w określonych porach dnia, dlatego organizm musi przewidywać i odpowiednio reagować na to związane z czasem wyzwanie. Zegar molekularny kontroluje ekspresję i funkcję receptorów TLR, które jako pierwsze rozpoznają wzorce dla cząsteczek związanych z patogenem. W odpowiedzi na ich aktywację do miejsca zakażenia rekrutowane są różne subpopulacje komórek odpowiedzi immunologicznej wrodzonej i wydzielanie



*Ważnym elementem w rozwoju odpowiedzi nieswoistej są receptory toll-like (TLR). Receptory TLR charakteryzują się tym, że rozpoznają specjalne, grupowe struktury, charakterystyczne dla danego patogenu. Wzory rozpoznawane przez ten rodzaj receptora obejmują kombinacje cukrów, niektóre białka, zwłaszcza w cząsteczkach lipidów nośnym i niektóre motywy kwasu nukleinowego. Receptory Toll-like pozwalają odróżnić komórki własne organizmu od komórek obcych, patogenów.*

różnych cytokin prozapalnych. W większości badań stwierdzono maksymalne poziomy liczby komórek wrodzonego układu odpornościowego w ciągu dnia lub późnego dnia. Wykazano również, że poziomy cytokin i innych cząsteczek efekto-



rowych wykazują zmienność w ciągu dnia. Wykazano, że wszystkie poziomy w surowicy i synteza interferonu gamma (IFN- $\gamma$ ), czynnika martwicy nowotworów (TNF- $\alpha$ ), interleukiny (IL)-, IL-2, IL-6 i IL-12 wykazują rytm, ze szczytem zwykle obserwowanym w nocy lub wczesnym rankiem.

### **Rytmy w swoistej odpowiedzi immunologicznej**

Ostateczną linią obrony organizmu jest swoista (nabyta) odpowiedź immunologiczna. Jest ona uruchamiana gdy mechanizmy odpowiedzi nieswoistej zawiodą i nie zwalczą czynnika chorobotwórczego. Obrona ta jest bardzo wyspecjalizowana przeciwko danemu patogenowi. Limfocyty T i B są populacjami komórek charakteryzującymi nabytą odpowiedź odpornościową, który wzmacnia odpowiedź immunologiczną dla antygeny i jest zdolna do tworzenia pamięci. Komórki prezentujące antygen (APC) aktywują naiwne komórki pomocnicze Th niosące pokrewny receptor komórek T we wtórnych tkankach limfatycznych (np. węzłach chłonnych) w celu namnażania się i różnicowania w populacje efektorowe określane zgodnie z ich profilem cytokin (np. komórki Th1 wytwarzające IFN- $\gamma$ ). Komórki te następnie wspierają cytotoksycznie komórki Tc i makrofagi w celu wyeliminowania patogenu i komórki B w celu wytworzenia przeciwciał. Niektóre limfocyty T i B stają się komórkami pamięci, które mogą reagować szybciej i bardziej wydajnie po ponownym rozpoznaniu danego antygeny.

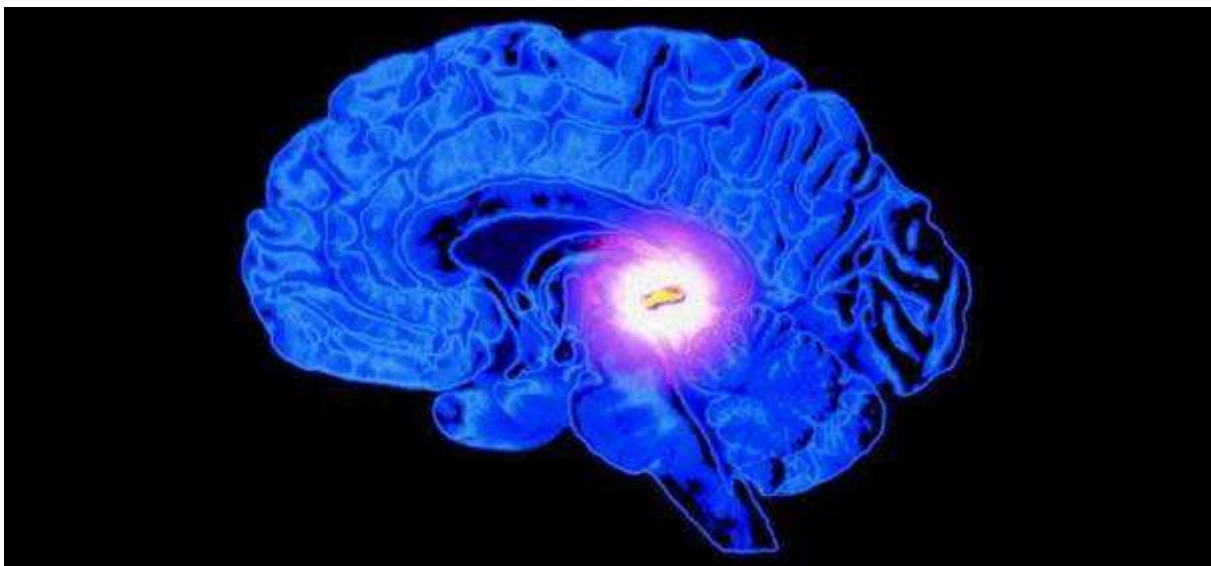
Limfocyty T na wczesnych etapach różnicowania, takie jak naiwne oraz komórki pamięci T pomocnicze i cytotoksyczne, wykazują rytm o wysokiej amplitudzie osiągający szczyt podczas początku fazy ciemnej, który jest regulowany przez przeciwstawny rytm kortyzolu. W świetle wcześniejszych badań nad indukowanym przez steroidy zmniejszeniem liczby komórek T, zakłada się, że komórki naiwne i pamięci są wyczerpywane z krwi w godzinach porannych z powodu wzrostu endogennego kortyzolu, który przekierowuje te komórki do szpiku kostnego. W przeciwieństwie do tego, cytotoksyczne komórki efektorowe, takie jak komórki NK, komórki T osiągają szczyt podczas okresu aktywności, ponieważ są one mobilizowane do krążenia z powodu wzrostu endogennej adrenaliny.





### Wpływ melatoniny

Dobowe wydzielanie melatoniny może również regulować ekspresję mediatorów odpornościowych, takich jak cytokiny. Podstawowym miejscem syntezy melatoniny jest szyszynka, która jest ściśle regulowana przez SCN. Oprócz działania jako hormon okołodobowy, melatonina ma znaczący wpływ immunomodulujący. Na przykład szczytowy rytm dobowy melatoniny w nocy został skorelowany z nocnym wzrostem limfocytów T we krwi. Z kolei po pinealektomii, operacyjnym usunięciu szyszynki, następuje ogólne hamowanie układu odpornościowego, prawdopodobnie



*Podstawowym miejscem syntezy melatoniny jest szyszynka, która jest ściśle regulowana przez SCN.*

za pośrednictwem redukcji liczby limfocytów i poziomu cytokin, takich jak interleukina (IL)-2, IL-12 i czynnik martwicy nowotworów. Ponadto, w mysich komórkach szpiku kostnego podawanie melatoniny wydaje się indukować odporność poprzez hamowanie apoptozy podczas wczesnego rozwoju limfocytów B. Melatonina odgrywa również rolę w rozwoju i wzroście raka, ponieważ jego narastanie jest skorelowane zarówno ze zmniejszeniem cytokiny przeciwzapalnej IL-10, która ma działanie promujące wzrost raka, jak i ze zwiększającą się liczbą monocytów wytwarzających IL-6, która ma działanie stymulujące nowotwory.

### Dwukierunkowe oddziaływania zegara biologicznego

Okazuje się, że w przypadku oddziaływania zegara biologicznego z układem odpornościowym mówimy o dwukierunkowej interakcji. Zegar biologiczny silnie



oddziałuje na regulację rytmów wydzielania i syntezy elementów efektorowych układu immunologicznego, tak aby organizm zachowywał homeostazę. Mediatorzy zapalne mogą również zwrotnie działać na centralny zegar biologiczny oraz szyszynkę. Zarówno w badaniach *in vitro* jak *in vivo* wykazano, silne działanie lipopolisacharydu (LPS, składnik zewnętrznej błony komórkowej bakterii gram ujemnych) na SCN i szyszynkę.

Bezpośrednie podawanie LPS do plastrów SCN zwiększa wydzielanie neuropeptydu argininy-wazopresyny, której pierwotnie rytmiczna ekspresja jest bezpośrednio regulowana przez SCN. Sugeruje to, że neuroendokrynne wydzielanie SCN może być również modyfikowane przez aktywację układu odpornościowego i ostatecznie wpływać na rytmy behawioralne gospodarza. Wykazano również, że dootrzewnowe wstrzyknięcie LPS myszom indukowało opóźnienia fazowe w ich aktywności ruchowej. Te przesunięcia fazowe aktywności lokomotorycznej gryzoni były obecne tylko wtedy, gdy LPS podano w konkretnych porach dnia, co ilustruje zależność reakcji zapalnej od pory dnia. Jak sugeruje ten eksperyment bodźce zapalne podawane na obwodzie ciała mogą wywoływać zmiany w zegarze okołodobowym organizmu. Wszystkie te obserwacje doprowadziły do badań nad molekularnymi konsekwencjami wywołanej reakcji zapalnej. Dowiedziono, że dożylne wstrzyknięcie LPS szczurom powoduje znaczne hamowanie genów zegarowych w SCN, co zaburza funkcjonowanie całego zegara biologicznego. Rozwój reakcji zapalnej hamuje również wydzielanie melatoniny, poprzez znaczne obniżenie ekspresji jednego z kluczowych enzymów na szlaku biosyntezy melatoniny.

#### Źródła:

1. Cermakian N., Lange T., Golombek D., Sarkar D., Nakao A., Shibata S., Mazzocchi G, 2013. Crosstalk between the circadian clock circuitry and the immune system. *Chronobiology International*; Early Online: 1–19.
2. Mavroudis P. D., Scheff J. D., Calvano S. E., Androulakis I. P., 2013. Systems Biology of Circadian-Immune Interactions. *J Innate Immun*; 5: 153–162.
3. Skwarlo-Sonta K., Majewski P.M., Markowska M., Oblap R., Olszanska B, 2003. Bidirectional communication between the pineal gland and the immune system. *Can. J. Physiol. Pharmacol*; 81: 342–349.

