

Przeciwzapalna funkcja komórek mikrogleju w świetle najnowszych badań naukowych

Anti-inflammatory microglial cell function in the light of the latest scientific research

Krzysztof Łabuzek, Edyta Skrudlik, Bożena Gabryel, Bogusław Okopień
Katedra Farmakologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

STRESZCZENIE

Komórki mikrogleju są reprezentantami układu immunologicznego w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN). Od dawna były postrzegane jako główny agresor, indukujący i podtrzymujący procesy zapalne i neurodegeneracyjne w OUN. Ostatnie doniesienia naukowe wskazują jednak, że mogą one pełnić istotną rolę ochronną. W niniejszej pracy przedstawiono dowody naukowe, podkreślające ich właściwości przeciwzapalne. Komórki mikrogleju podlegają aktywacji na dwa różne sposoby, co powoduje powstanie dwóch odmiennych fenotypów: klasycznego zapalnego oraz alternatywnego przeciwzapalnego. Ten ostatni charakteryzuje się m.in. ekspresją CD200 oraz fraktalkiny. Alternatywnie aktywowany mikroglej produkuje również cytokiny prozapalne, których wpływ na otaczające komórki nie do końca wiąże się tylko z ich destrukcją, lecz także niejednokrotnie z procesami neuroregeneracji i mielinizacji. Być może przedstawienie najnowszych doniesień skieruje uwagę badaczy na nowe narzędzia mogące znaleźć zastosowanie w zapobieganiu i leczeniu chorób OUN poprzez wykorzystanie przeciwzapalnych właściwości komórek, które wciąż uważa się za komórki prozapalne.

SŁOWA KLUCZOWE

mikroglej, fraktalkina, alternatywna aktywacja, CD200, IL-1, IL-6, TNF, TGF

ABSTRACT

Microglia represent the immune system in the central nervous system. They have long been regarded as the main aggressor, which induce and support inflammatory and neurodegenerative processes in the central nervous system. The latest studies indicate that they can also play a protective role. In this study we present evidence underlying their anti-inflammatory properties. Microglia can be activated in two different ways and they have two different phenotypes: classical – pro-inflammatory and alternative – anti-inflammatory. The latter is characterized by CD200 expression and fractalkine. Alternatively, the activated microglia also produce pro-inflammatory cytokine. Their influence on the surrounding cells is associated not only with destruction but also with neuroregeneration and myelination. Perhaps the latest reports will draw researchers' attention to new solutions which may be used in the prevention and treatment of the central nervous system diseases through the anti-inflammatory properties of cells which are still seen as inflammatory cells.

KEY WORDS

microglia, fractalkine, alternative activation, CD200, IL-1, IL-6, TNF, TGF

Received: 01.04.2014

Revised: 18.11.2014

Accepted: 18.11.2014

Published online: 01.07.2015

Adres do korespondencji: Dr hab. n. med. Krzysztof Łabuzek, Katedra Farmakologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach,
ul. Medyków 18, 40-752 Katowice, tel. +48 503 067 376, e-mail: labuzek@labuzek.com

Copyright © Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
www.annales.sum.edu.pl

WSTĘP

Proces zapalny w obrębie ośrodkowego układu nerwowego (OUN) jest niezmiennie kojarzony z patologią, należy jednak pamiętać, iż jego destrukcyjna istota ma związek nie tyle z samą obecnością, ile z jego intensywnością i dynamiką. Klasyczna, objawowa farmakoterapia przeciwzapalna sprowadza się aktualnie do stosowania leków, takich jak NLPZ (niesteroidowe leki przeciwzapalne). Istnieją jednak doniesienia, że terapia taka może paradoksalnie zwiększyć obszar zniszczenia towarzyszący zapaleniu, ponieważ – hamując ekspresję cytokin i molekuł prozapalnych – ogranicza zdolność układu immunologicznego do pełnego rozwinięcia efektów działania czynników modyfikujących późne etapy zapalenia, których skutkiem jest *restitutio ad integrum* [1]. Rola klasycznie aktywowanego mikrogleju kojarzy się zwykle z niekorzystną i destrukcyjną aktywnością wobec otaczających go komórek układu nerwowego. Doniesienia naukowe z ostatnich kilku lat stopniowo jednak fakt ten podważają. Okazuje się, że aktywowany mikroglej pełni funkcję nie tylko ofensywnego „niszczyciela” oraz defensywnego „czyściciela”, lecz posiada także wiele ważnych cech, bez których długofalowe opanowanie procesu zapalnego w mózgu byłoby niemożliwe. Mikroglej bierze aktywny udział w promowaniu i odnowie komórek neuronalnych, a także oligodendrocytów, co wskazuje zarówno na czynny udział w neuroregeneracji, jak i sugeruje istotny wpływ na procesy remielinizacji [2,3,4].

Komórki mikrogleju zostały opisane po raz pierwszy przez Rio-Hortega w 1932 r. Stanowią one od 5 do 20% wszystkich komórek glejowych w ośrodkowym układzie nerwowym i są głównymi reprezentantami układu immunologicznego w mózgu, w którym pełnią rolę układu siateczkowo-śródbłonkowego obecnego w innych narządach naszego organizmu [5,6,7,8].

Występują w dwóch odmianach morfologicznych – jako komórki ameboidalne (*ameboid microglia*) oraz komórki rozgałęzione (*ramified microglia*). Pierwsze z nich występują w okresie embrionalnym i perinatalnym i odgrywają rolę w procesie embriogenezy OUN. Ich ciało pokryte jest filopodiami i pseudopodiami, posiadają dobrze rozwinięty aparat Golgiego i znaczną liczbę lizosomów oraz okrągłe jądro z brzeżnie położoną chromatyną. Komórki te zanikają w życiu dorosłym, mogą się jednak pojawić na późniejszych etapach życia osobniczego w procesach związanych z neurodegeneracją [9]. Komórki mikrogleju rozgałęzionego mają wydłużone ciało, małe nieregularne, spłaszczone jądro oraz długie, zwężające się odgałęzienia z różną liczbą drobnych wyrostków [9]. Nie są zdolne do fagocytozy, ze względu na niewielką liczbę enzymów proteolitycznych. Pojawiają się w mózgu

w okresie poporodowym i występują tam podczas całego życia osobniczego. Ten typ mikrogleju powstaje z mikrogleju ameboidalnego i przyjmuje formę spoczynkową, niewykazującą cech typowych dla komórek fagocytarnych, która jednak w warunkach uszkodzenia tkanki nerwowej może przekształcić się w formę ameboidalną [2,9].

Pochodzenie mikrogleju

Aktualnie postuluje się, że mikroglej, podobnie jak oligodendrocyty i astrocyty, może wywodzić się z neuroektodermy, brać swój początek z komórek przydanki naczyń krwionośnych, z populacji hematopoetycznych komórek macierzystych znajdujących się w układzie nerwowym, z tkanek mezenchymalnych/mezodermalnych lub pochodzić z krążących we krwi obwodowej monocytów [10,11,12]. Najstarsza koncepcja pochodzenia mikrogleju zakłada, że do organizującego się w procesie ontogenezy układu nerwowego wnikają komórki opony miękkiej pochodzące z mezodermy, a następnie migrują do poszczególnych części OUN z okolicy splotów naczyniówkowych. Następnie ulegają przekształceniom w mikrogliaoblasty (młode, okrągłe komórki), mikrogliaocyty (komórki ameboidalne) i wreszcie w dojrzały mikroglej, nazywany również mezoglejem (komórki rozgałęzione) [11,13,14,15].

W myśl innej hipotezy, mikroglej pochodzi z pericytów, czyli komórek przydanki naczyń krwionośnych znajdujących się w OUN [13]. Bierze się również pod uwagę neuroektodermalne źródło komórek mikrogleju. Według tej teorii, ma on pochodzić, podobnie jak pozostałe komórki OUN, z pluripotencjalnych, ependymalnych glioblastów [13]. Na podstawie badań struktury tych komórek stwierdzono występowanie cech wspólnych dla komórek mikrogleju oraz glioblastów pochodzących z warstwy podwyściółkowej komórki bocznej mózgu [16].

Autorami najpopularniejszej obecnie hipotezy dotyczącej pochodzenia mikrogleju są Santha i Juba [17]. Postulują oni, że mikroglej ma pochodzenie szpikowe i wywodzi się z linii monocytarnej szpikowych komórek macierzystych (*stem cells*), które po przejściu do układu nerwowego ulegają odpowiednim przekształceniom [17,18]. Zaobserwowano, że u człowieka zasiedlanie ośrodkowego układu nerwowego następuje od drugiej połowy pierwszego trymestru do pierwszej połowy drugiego trymestru ciąży, natomiast u szczurów odbywa się to pomiędzy 10 i 19 dniem rozwoju embrionalnego [10].

Około 2/3 komórek mikrogleju ginie w ciągu pierwszego tygodnia po urodzeniu, a ta część, która przeżyje, zaczyna zmieniać swój kształt na owalny, ameboidalny pomiędzy drugim a trzecim tygodniem rozwoju. Komórki mikrogleju ulegają stopniowo wydłużeniu, wzbogacają się o wyrostki i odgałęzienia, co w efekcie

prowadzi do powstania ostatecznej formy mikrogleju rozgałęzionego, charakterystycznego dla osobników dorosłych. Podkreśla się, że przemiany te mogą zachodzić tylko w czasie rozwoju embrionalnego i w okresie perinatalnym, a u dorosłego osobnika nie są już możliwe [19]. Przypuszcza się również, że odnowa komórek mikrogleju w prawidłowej, zdrowej tkance nerwowej następuje wyłącznie poprzez proliferację mikrogleju endogennego, ponieważ nie jest możliwy jakikolwiek napływ komórek z zewnątrz do mózgu przez ukształtowaną i dojrzałą barierę krew–mózg [20].

Zaobserwowano, że w czasie rozwoju zarodkowego i płodowego istnieją dwie oddzielne subpopulacje komórek mikrogleju [10,16]. Pierwsza z nich pochodzi z pozanaczyniowych komórek progenitorowych pochodzenia mezodermalnego/mezenchymalnego, które stale ulegają różnicowaniu i w okresie dorosłości występują jako tzw. komórki mikrogleju mięszoowego (*parenchymal microglia*). Druga populacja pochodzi z progenitorowych komórek krążących we krwi obwodowej, którymi są najprawdopodobniej monocyty/makrofagi płodowe. Występuje głównie w okresie rozwoju peri- i postnatalnego, rzadziej w okresie płodowym [10,16].

Funkcje mikrogleju

Komórki mikrogleju są zdolne do migracji, proliferacji, a także zmian morfologicznych i wydzielania wielu aktywnych biologicznych substancji [3,21,22, 23,24]. Mikroglej uczestniczy w odpowiedzi immunologicznej m.in. przeciwko wirusom oraz organizmom jednokomórkowym, które wtargnęły do OUN i doprowadziły do jego uszkodzenia. Pełni zatem funkcję pierwszej linii obrony, na którą składają się: rozpoznanie patogenu, rekrutacja komórek układu odpornościowego, usuwanie patogenu oraz naprawa uszkodzonej tkanki [2,8,12]. Posiadają zdolność do ekspresji cytokin, cytotoksyn i innych aktywnych związków mogących oddziaływać na drodze parakrynej i autokrynej. Związki te, to m.in.: TNF α , IL-1 α , IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-16, IFN α , IFN γ , TGF β , M-CSF, GM-CSF, chemokiny (IL-8, Gro α , IP-10), FGF (*fibroblast growth factor*), PDGF (*platelet-derived growth factor*), BDNF (*brain derived neurotrophic factor*), NGF (*nerve growth factor*), metabolity kwasu arachidonowego (prostaglandyna E2, leukotrieny, PAF), reaktywne formy tlenu (ROS), a także składniki układu dopełniacza (C1, C2, C3, C4, C5) [2,3,12,20,25]. Ponadto komórki mikrogleju wykazują na swojej powierzchni ekspresję receptorów typu Fc γ RI dla fragmentów Fc łańcuchów immunoglobulin [6].

Komórki mikrogleju biorą udział w prezentowaniu antygenów, dzięki cząsteczkom głównego kompleksu zgodności tkankowej klas I i II (MHC I i MHC II).

Obecnie wiadomo, że ich ekspresja związana jest z przeciwzapalną, alternatywną aktywacją mikrogleju, podobnie jak ekspresja arginazy 1, receptorów dla mannozy C typu I (MRC1/CD206), proliferatów peroksysomów aktywujących receptor gamma (PPAR γ) oraz Ym1 i ma miejsce zarówno w stanach fizjologicznych, jak i patologich układu nerwowego, którym towarzyszy uszkodzenie neuronów [2,3,4].

Jedną z funkcji mikrogleju jest fagocytoza, która zachodzi przy udziale m.in. receptorów dla fragmentów Fc łańcuchów immunoglobulin, receptorów dla składowych dopełniacza oraz receptorów mannozowych [2]. Funkcja ta warunkuje właściwą neurogenezę, której przebieg regulowany jest właśnie stanem ich aktywacji. Obecnie wiadomo, że alternatywnie, przeciwzapalnie aktywowana postać mikrogleju wykazuje protekcyjne działanie w stosunku do neuroblastów, umożliwiając im właściwe różnicowanie się do neuronów, natomiast w dojrzałym mózgowiu bierze udział w mechanizmach neuroplastyczności, procesach neuroregeneracji i remielinizacji [3,4]. Opisane procesy możliwe są m.in. dzięki zdolności tych komórek do komunikowania się między sobą oraz pozostałymi komórkami OUN [26]. W tych wzajemnych interakcjach udział biorą nukleotydy, chemokiny oraz liczne neuroprzekaźniki (m.in. fraktalkina, TGF β , NGF, kwas glutaminowy) [5,26].

Rola mikrogleju w neuropatologii

Komórki mikrogleju biorą udział w utrzymaniu prawidłowej funkcji neuronów, z którymi pozostają w ścisłym związku funkcjonalnym [20]. Są niezwykle czułe na wszelkie zmiany w otaczającym je środowisku, na które reagują proliferacją i natychmiastową aktywacją zapalną [12,27]. W wyniku tego dochodzi do wzrostu ekspresji powierzchniowych receptorów CD11b, MHC klas I i II oraz zmiany fenotypu ze spoczynkowego na ameboidalny, prozapalny. Następuje wtedy nasilenie produkcji czynników wzrostu, cytokin pro- i przeciwzapalnych, reaktywnych form tlenu, kwasu glutaminowego, substancji, które wykazywać mogą bezpośrednie działanie neurotoksyczne, a towarzysząc zaburzeniom w komunikacji międzykomórkowej, stanowią istotę neurodegeneracji będącej fundamentem takich patologii, jak: choroba Alzheimera, Parkinsona, stwardnienie rozsiane, płasawica Huntingtona oraz otępienie związane z infekcją wirusem HIV-1 [1,2,11,12,20,27,28,29].

Na podstawie badań, w których analizie poddano profile ekspresji genów w mikrogleju pochodzącym od osób z chorobą Alzheimera, a także w zwierzęcych modelach chorób neurodegeneracyjnych wykazano, że poza klasycznie, zapalnie aktywowanym mikroglejem w patologich tych występuje zarówno jego forma alternatywna, przeciwzapalna, jak i hybrydy obu tych fenotypów [12,30]. Zacytowane badania stały

się podstawą do wysunięcia hipotezy głoszącej, że jednym z punktów wyjścia chorób neurodegeneracyjnych mogą być zaburzenia w regulacji wzajemnych przemian komórek mikrogleju. Skutkiem tego jest nieprawidłowy stosunek fenotypu przeciwzapalnego do prozapalnego [9,30,31], tym bardziej że właśnie te komórki pobudzone klasycznie stanowią w OUN największe źródło tlenu azotu, reaktywnych form tlenu i azotu oraz cytokin prozapalnych, których destrukcyjny wpływ na sąsiadujące neurony nie pozostawia wątpliwości [2]. Przez wiele lat dostrzegano tylko neurotoksyczną rolę mikrogleju oraz uważano go za głównego sprawcę chorób neurodegeneracyjnych [2]. Dopiero doniesienia ostatnich lat ukazały jego neuroprotektoryjne oblicze, realizowane m.in. poprzez ekspresję NGF, BDNF, NT-3, NT-4, TGF β , IL-10, IGF-1 oraz VEGF [2]. Zrozumienie dualistycznej natury mikrogleju wymaga zatem przedstawienia jego funkcji alternatywnej, czyli działania przeciwzapalnego [3,4].

Klasyczna i alternatywna aktywacja mikrogleju

Komórki mikrogleju mogą zostać aktywowane na dwa różne sposoby, skutkujące powstaniem formy klasycznej (M1) lub alternatywnej (M2) [4,11]. Klasyczna, prozapalna aktywacja mikrogleju (M1) związana jest *in vivo* z odpowiedzią na neuroinfekcje oraz czynniki bezpośrednio uszkadzające tkankę nerwową [4,11]. Odpowiada również za proliferację komórek oraz zmiany morfologiczne w otaczającej tkance nerwowej, takie jak obrzęk, spowolnienie procesów metabolicznych, a także uwalnianie cytokin prozapalnych (IFN γ , IL1 β , IL-12, IL-16, TNF α , IL-6), metaloproteinaz (MMP), tlenu azotu (NO), reaktywnych form tlenu i azotu [4,12]. Klasyczne pobudzenie mikrogleju za pomocą domózgowego podania LPS powoduje u gryzoni zmniejszenie liczby komórek neuronalnych, a także upośledzenie procesu neurogenezy [3]. Obserwuje się również odwrotną korelację pomiędzy liczbą zapalnie aktywowanych komórek mikrogleju a liczbą nieuszkodzonych neuronów. Zależność ta ulega odwróceniu po jednoczesnym zastosowaniu minocykliny będącej inhibitorem zapalnej aktywacji mikrogleju [3]. Kolejną niekorzystną cechą prozapalnego fenotypu mikrogleju wykazano w badaniu na myszach transgenicznym, u których podwyższona ekspresja IL-6 negatywnie korelowała z liczbą komórek progenitorowych w mózgu [3]. Skutki uboczne prozapalnej aktywności mikrogleju widać również w przypadku wytworzenia się połączeń między neuronami, ponieważ zwiększeniu ulega liczba sygnałów hamujących rozwój tych połączeń [3]. Aktywowanie klasycznie mikroglej powoduje również degradację macierzy zewnątrzkomórkowej, destabilizuje połączenia synaptyczne oraz promuje retrakcję dystroficznych neuronów [4].

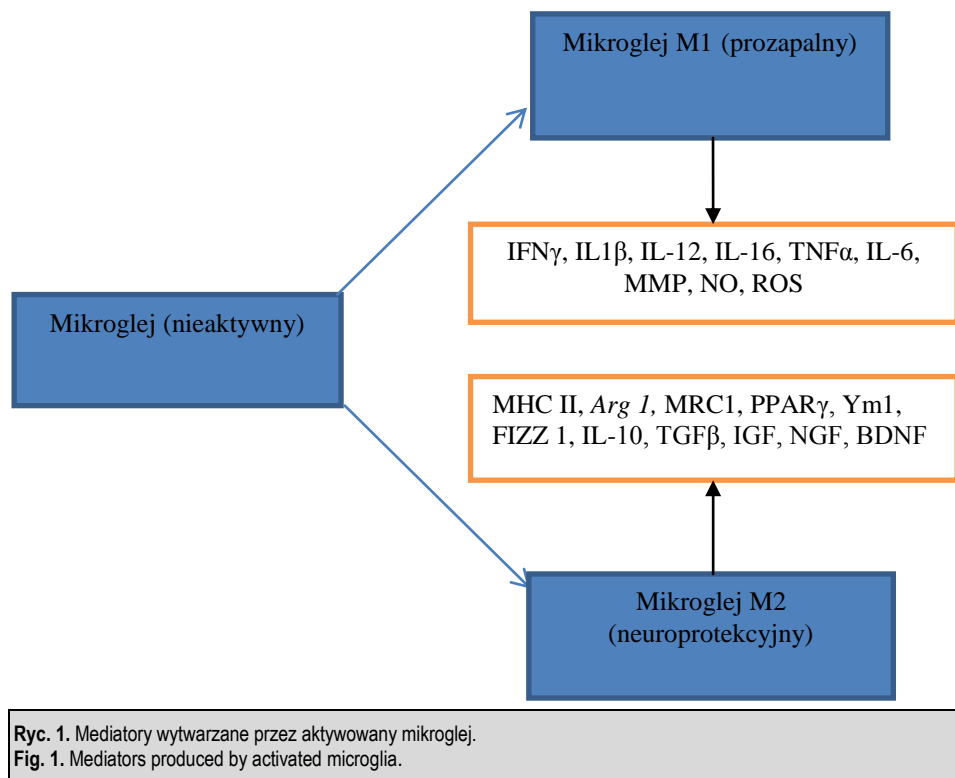
Zupełnie odmiennie przedstawia się sytuacja, w której mikroglej zostaje aktywowany w sposób alternatywny i wykazuje cechy tzw. fenotypu M2. Taka aktywacja wiąże się z jego funkcją neuroprotektoryjną, wynikającą z pobudzonych mechanizmów związanych z regeneracją tkanek oraz rekonstrukcją macierzy zewnątrzkomórkowej [3]. Głównymi wskaźnikami alternatywnej przeciwzapalnej aktywacji mikrogleju jest ekspresja i MHC II (*major histocompatibility complex II*), arginazy 1 (*Arg 1*), receptorów dla mannozy (MRC1), PPAR γ , Ym1 (*chitinase-3 like 3*) i FIZZ 1 (*found in inflammatory zone 1*) [3].

Alternatywnie pobudzony mikroglej wykazuje podwyższoną ekspresję cytokin uznawanych obecnie za przeciwzapalne, takich jak: IL-10, TGF β , IGF, NGF oraz BDNF [3]. Badania przeprowadzone w ostatnich latach dowiodły, że alternatywny fenotyp tych komórek można uzyskać w warunkach *in vitro* poprzez dodanie do hodowli IL-4 lub IL-13 [3,11]. Opracowanie takiej metodyki umożliwiło dokładną ocenę roli poszczególnych fenotypów mikrogleju oraz ich różnego wpływu na procesy związane z neurogenezą [3]. W zwierzęcym modelu niedokrwienia mózgu udowodniono na przykład, że zjawisko alternatywnej aktywacji tych komórek znacznie wyprzedza w czasie początek procesów związanych z neurogenezą [3].

Alternatywna aktywacja mikrogleju związana jest także z aktywnością inflamasomu NLRP3, który – aktywowany przez amyloid β – odpowiada za dojrzewanie IL-1 β do jej ostatecznej, działającej formy [32]. W badaniu na myszach wykazano, że niedobór NLRP3, odpowiedzialny za zmianę fenotypu mikrogleju na przeciwzapalny, powoduje mniejsze odkładanie się amyloidu β w mózgu. Wydaje się, że próby farmakologicznego zahamowania tego inflamasomu mogą okazać się nową, obiecującą opcją terapii choroby Alzheimera [32].

Zapalna aktywacja komórek mikrogleju ma znaczenie przede wszystkim w obronie przed patogenami, choć stanowi jednocześnie fundament procesów neurodegeneracyjnych [1,2]. Analiza dotychczasowych doniesień naukowych pokazuje, że aby przywrócić długofalową homeostazę w mózgu, konieczne jest nie tyle zahamowanie opisywanej prozapalnej aktywności mikrogleju, ile próba zmiany jego fenotypu na taki, który pozwoli na naprawę i rekonstrukcję uszkodzonej tkanki [9,11,30,31].

Warto zauważyć, że w zmianie fenotypu zapalnego na przeciwzapalny (*switch*) biorą udział różnorodne czynniki, do uwolnienia których dochodzi już na początku klasycznego zapalenia [2,3]. Zatem próba farmakologicznego zahamowania funkcji klasycznie pobudzonego mikrogleju (m.in. NLPZ) może okazać się niekorzystna w aspekcie długofalowych efektów, w związku z jednoczesnym zahamowaniem „dobrych” cech omawianych komórek [1].



Mikroglej i fagocytoza

Jednym z najważniejszych elementów nieswoistej odporności komórkowej w OUN jest fagocytoza. Stanowi ona podstawowy oręż w walce z chorobotwórczymi drobnoustrojami, które przekroczyły barierę krew–mózg [33]. Pobudzony mikroglej przyczynia się nie tylko do skutecznego oczyszczania mózgu z patogenów, ale także z pozostałości po obumarłych fragmentach komórek tkanek otaczających, co odgrywa szczególnie istotną rolę w procesach naturalnego starzenia się mózgu [33]. Opisywane zjawisko zachodzi dzięki receptorom, wśród których wyróżnić można receptory TLRs (*Toll Like Receptors*), odpowiedzialne za rozpoznawanie patogenów, receptory rozpoznające komórki apoptotyczne oraz receptory rozpoznające endogenne ligandy, takie jak cząsteczki fosfatydyloleryny [28].

Opisane receptory są klasyfikowane na podstawie rozpoznawanych przez nie wzorców molekularnych i ligandów. Struktury lipidowe są rozpoznawane przez TLR2, LPS przez TLR4 [2], natomiast kwasy nukleinowe wirusów i bakterii przez TLR3, 7, 8 i 9 [2]. Receptory te wykrywają tzw. DAMPs (*damage-associated molecular pattern molecules*), które uwalniane są z uszkodzonych komórek, oraz PAPMs (*pathogen associated molecular patterns*), które są wspólne dla wszystkich patogenów. Ponadto aktywowany mikroglej wykazuje również ekspresję recepto-

rów dla mannozy MRC1 (CD206) i typu *scavenger* [20]. Badania z ostatnich lat wskazują, że receptory TLRs uczestniczą nie tylko w rozpoznawaniu i usuwaniu patogenów, ale wraz z koreceptorem CD14 biorą udział w usuwaniu złogów włóknikowego amyloidu β gromadzącego się w mózgach chorych na chorobę Alzheimera [20,24].

W ostatnim czasie zwrócono uwagę na receptor Trem2, którego funkcja wiąże się z fagocytozą [8,11,34]. Jedną z jego mutacji odpowiada za ponadtrzykrotne zwiększenie ryzyka wystąpienia choroby Alzheimera i stanowi jeden z najlepiej poznanych do tej pory czynników ryzyka tej choroby [34]. W podjętych badaniach podkreślono, że właśnie fagocytarne zdolności komórek mikrogleju w głównej mierze odpowiadają za homeostazę tkanki nerwowej, co niewątpliwie stanowi kolejne wyzwanie w świetle farmakoterapii schorzeń neurodegeneracyjnych [8,11,12,34].

Innym białkiem budzącym spore zainteresowanie badaczy jest beklina 1, niezbędna do prawidłowego przebiegu procesu fagocytozy i właściwych przemian receptorów biorących udział w tym procesie [34]. Jej niedobór powoduje dysfunkcję receptorów, takich jak CD36 i Trem2, bez udziału których proces fagocytozy zachodzi mało efektywnie. Interesujący jest fakt, że zmniejszoną ekspresję bekliny-1 obserwuje się w mózgu osób chorujących na chorobę Alzheimera. Udało się również potwierdzić, że w tkance nerwowej

tych osób fagocytoza zachodzi nieefektywnie, a złoży amyloidu β nie są usuwane, co stanowi przecież podłoże patogenetyczne tej choroby [34].

W ostatnich latach zbadano również wpływ metforminy, będącej aktywatorem kinazy AMP, na proces mikroglejowej fagocytozy fragmentów amyloidu β [35]. W badaniach tych wykazano, iż metformina pobudza fagocytozę zarówno w przypadku obecności, jak i braku amyloidu β , a – co najistotniejsze – lek ten przekracza barierę krew–mózg i ma zdolność do kumulowania się w wielu strukturach mózgowia [35].

Podwójna rola komórek prozapalnych

Na podstawie doniesień wielu niezależnych autorów wypracowano pogląd, iż cytokiny odpowiedzialne są nie tylko za negatywne cechy procesu zapalnego, lecz mają również działanie przeciwzapalne [33,36,37,38,39,40,41,42,43,44,45]. Mogą pełnić funkcje neuroprotekcyjne w takich sytuacjach, jak np. uszkodzenie fizyczne neuronów [37], niedokrwienie tkanki nerwowej [37,38, 46], choroba Alzheimera [47] lub neuroinfekcje [48]. Wykazano poza tym ich udział w procesach neurogenezy i neuroregeneracji [28,40,48,49,50]. Pełniejsze zrozumienie tych procesów i ich związek z zaprezentowanymi w niniejszej pracy cytokinami niewątpliwie umożliwi ich wykorzystanie w terapii wielu schorzeń. Wydaje się, iż jest to dopiero początek poznawania tych jakże istotnych, choć do tej pory niedocenianych związków.

Cytokiny działające przeciwzapalnie

Rola CD200 i CD200R

Najistotniejsza w utrzymaniu ośrodkowego układu nerwowego w stanie homeostazy jest odpowiednia kontrola pojawiających się w nim procesów zapalnych.

Omawiając „pozytywne” efekty działania mikrogleju w mózgu, należy wspomnieć o roli, jaką pełni glikoproteina CD200 oraz jej receptor CD200R. Ekspresję CD200 wykazano m.in. na powierzchni neuronów oraz oligodendrocytów kory mózgowej, hipokampa, prążkowie, mózdzku i rdzenia kręgowego [51,52,53], a także na powierzchni komórek bezpośrednio zaangażowanych w odpowiedź zapalną, takich jak limfocyty T i B oraz na niektórych komórkach nowotworowych [52]. Swoje działanie rozwija poprzez powinowactwo do swojego receptora CD200R, który znajduje się m.in. właśnie na powierzchni komórek mikrogleju, a także na makrofagach, monocytach, neutrofilach, komórkach tucznych i limfocytach [51,52,53]. Co najistotniejsze, stała interakcja pomiędzy CD200 występujących na neuronach i oligodendrocytach oraz CD200R obecnych na komórkach mikrogleju pozwala na utrzymanie tych ostatnich w stanie

labilnego „pokoju”, co powoduje, że próg zapalnej pobudliwości mikrogleju pozostaje stosunkowo wysoki [51,53]. Opisywana relacja jest prawdopodobnie jednym z podstawowych warunków odpowiedzialnych za kontrolę odpowiedzi zapalnej w OUN [11,51]. Badanie przeprowadzone na modelu mysim pokazało, że jedynie w przypadku alternatywnej aktywacji mikrogleju dochodzi do wzrostu ekspresji CD200R na powierzchniach tych komórek pod wpływem IL-4 [51]. Inni autorzy dowiedli, że ekspresja CD200 na neuronach zmniejsza się wraz z upływem lat życia osobniczego, odpowiadając za wzrost aktywności zapalnej mikrogleju i zmianę fenotypu M2 na M1. Obserwuje się to również u ludzi w podeszłym wieku i osób z chorobą Alzheimera [52].

Ostatnio poddano ocenie związek podwyższonej ekspresji CD200 z rozwojem chorób nowotworowych. Istnieją doniesienia, że wiele komórek nowotworowych wykazuje podwyższoną ekspresję CD200, co najprawdopodobniej prowadzi do zmniejszenia cytotoksyczności limfocytów T gospodarza wobec komórek nowotworowych [52]. W przypadku czerniaka, wzrost ekspresji CD200 koreluje z jego potencjałem do tworzenia przerzutów. Co więcej, wykazano odwrotną zależność pomiędzy wzrostem ekspresji CD200 i długością przeżycia pacjentów, co rzuca nowe światło na możliwości farmakologicznej modulacji CD200, również w aspekcie nowotworów [52].

Rola fraktalkiny i receptora CX3CR1

Obecność na powierzchni komórek mikrogleju receptorów dla fraktalkiny (na skutek ich interakcji), prowadzi do wyciszenia odpowiedzi zapalnej. Jest ona indukowana m.in. przez uszkodzenie neuronów. Następuje to poprzez wiele różnych mechanizmów. Być może będzie to jeden z nowych kierunków badań nad terapią chorób o podłożu neurodegeneracyjnym.

Fraktalkina jest chemokina, która występuje w formie związanej z błoną komórkową oraz rozpuszczalnej [33,36]. Jest jedyną chemokina, której ekspresja okazuje się większa w mózgu niż w innych tkankach [37]. Jej oddziaływanie na komórki odbywa się poprzez swoisty receptor CX3CR1 związany z białkiem G [37]. Wydzielana jest głównie przez neurony, natomiast jej receptor CX3CR1 wykazuje ekspresję na wielu innych komórkach, m.in. na mikrogleju, ale też na astrocytach, neuronach hipokampa, komórkach dendrytycznych, NK, monocytach i makrofagach. Czynniki uszkadzające, takie jak niedokrwienie, niedotlenienie, reperfuzja, aksonotomia, czynniki humoralne (TNF α , IFN γ , glutaminian, octan mirystynianu forbolu), powodują uwolnienie z neuronów postaci rozpuszczalnej fraktalkiny poprzez odłączenie jej od formy związanej z błoną komórkową. Odbywa się to, podobnie jak w innych tkankach, poprzez aktywację TACE (*TNF-alpha converting enzyme*)

na drodze proteolizy [37]. Interakcja pomiędzy uwolnioną fraktalkiną i jej receptorem obecnym na mikrogleju odpowiada za swoiste wyciszenie ich zapalnej odpowiedzi i stanowi istotny czynnik chroniący tkankę nerwową przed skutkami klasycznej aktywacji mikrogleju, będących podstawą procesów neurodegeneracyjnych [33,36].

W wyniku uszkodzenia neuronów fraktalkina zostaje wydzielona w formie rozpuszczalnej, a łącząc się ze swoistymi receptorami CX3CR1 wykazuje różnorodne działania, zależne od umiejscowienia receptorów [37]. W przypadku komórek mikrogleju obserwuje się nasilenie proliferacji i migracji tych komórek w okolice, które zostały uszkodzone [37]. Poza pobudzeniem procesu chemotaksji fraktalkina reguluje również zdolność mikrogleju do fagocytozy, a także hamuje w nich ekspresję IL-1 β , TNF α , IL-6 oraz wytwarzanie wolnych rodników tlenowych [33,36].

Fraktalkina związana z błoną komórkową neuronów zachowuje się jak molekula adhezyjna [33]. Zauważono ponadto, że ekspresja tej chemokiny zmniejsza się wraz z wiekiem, co koreluje ze zmianą fenotypu mikrogleju w kierunku prozapalnym. Niewątpliwie może mieć to związek z częstszym występowaniem chorób neurodegeneracyjnych właśnie w wieku podeszłym [36].

W modelu przewlekłego niedokrwienia mózgu oraz w innych modelach ischemii i hipoksji obserwuje się podwyższoną ekspresję fraktalkiny w uszkodzonych w ten sposób neuronach [33,38]. Efektem tego jest zahamowanie zjawiska apoptozy indukowanej obecnością glutamianu (hamowanie kaspazy-3) i jednoczesne działanie neurotropowe, wyrażające się m.in. poprzez wzrost wydzielania czynników dzia-

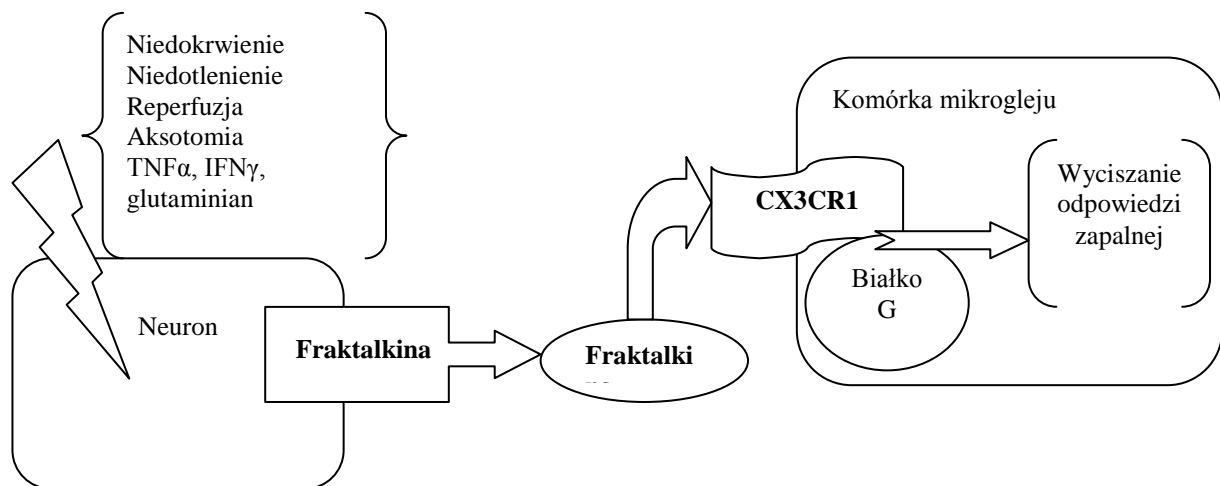
lających protekcyjnie, takich jak adenozyina [38]. Dzięki pośredniej aktywacji receptora adenozynowego A1R oraz hamowaniu apoptozy fraktalkina zmniejsza obszar uszkodzenia oraz deficyty neurologiczne mające miejsce po incydencie niedokrwinnym [38].

Rola TGF β i jego receptora

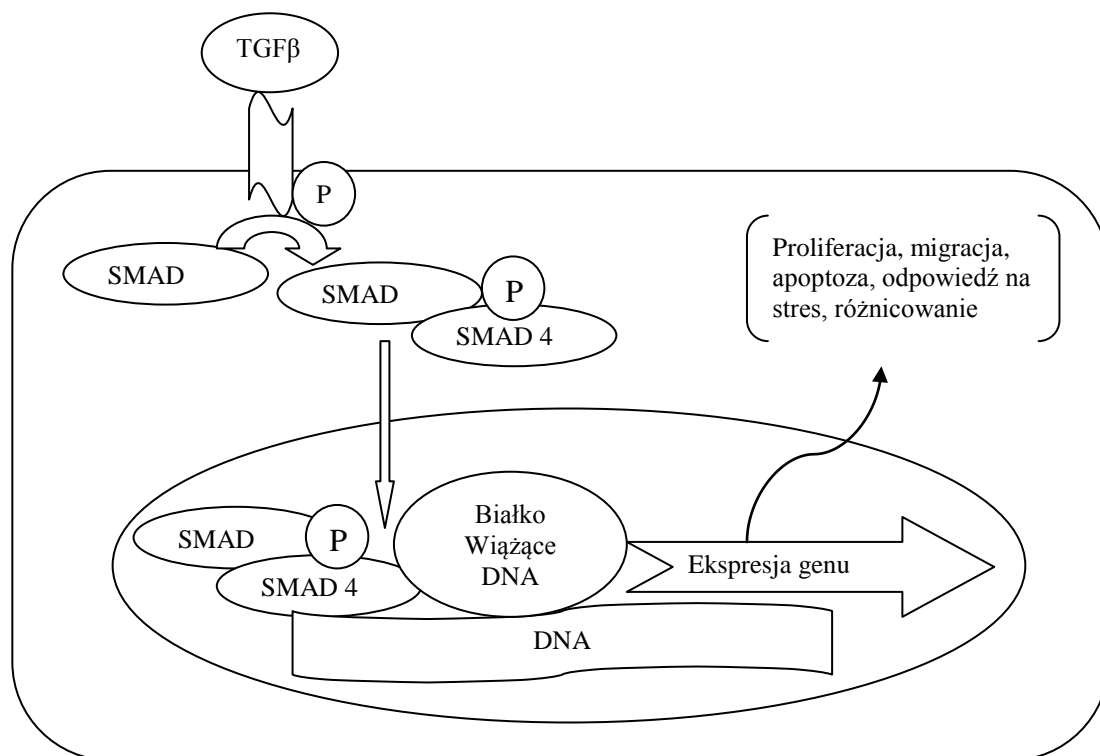
Transformujący czynnik wzrostu (*transforming growth factor* β – TGF β) jest cytokiną uwalnianą w odpowiedzi na alternatywną aktywację mikrogleju. Dzięki swoim przeciwzapalnym właściwościom pozwala na utrzymanie mikrogleju w stanie labilnej równowagi.

Swoje działanie wykazuje za pośrednictwem receptorów T β RI i T β RII, które występują w postaci kompleksu posiadającego aktywność kinazy serynowo-treoninowej [39,54]. TGF β przyłącza się do receptora typu II, który powoduje mobilizację i fosforylację receptora typu I, a ten z kolei fosforyluje białka Smad2/3, prowadząc do przekształcenia się Smad4 w kompleks heteromeryczny [39,47,54]. Kompleks ten ulega translokacji do jądra komórkowego, w którym reguluje ekspresję genów kodujących czynniki odpowiadające za utrzymanie mikrogleju w stanie spoczynku [39,47].

TGF β działa również na drodze niezależnej od Smad, wykorzystując ścieżkę MAPK (*mitogen-activated protein kinase signalling*) [39,47]. Badania ostatnich lat dowodzą, że komórki mikrogleju są istotnym źródłem tej cytokiny, która poprzez swoje autokrynne działanie nasila tworzenie alternatywnego fenotypu mikrogleju, do czego dochodzi poprzez addytywny wpływ tej cytokiny na wydzielanie IL-4 przez limfocyty T i B, co bezpośrednio promuje ich alternatywną



Ryc. 2. Przeciwzapalne działanie fraktalkiny. Czynniki uszkodzające neurony powodują odłączenie się fraktalkiny związanej z błoną komórkową neuronu, która w rozpuszczalnej formie łączy się z receptorem CX3CR1 związanym z białkiem G, powodując wyciszenie odpowiedzi zapalnej mikrogleju.
Fig. 2. Anti-inflammatory action of fractalin. Neurons damaging factors cause disconnection of fractalin attached to neuronal cell membrane. Fraktalin in soluble form binds to CX3CR1 receptor connected to G-protein, causing suppression of microglial inflammatory response.



Ryc. 3. Transdukcja sygnału poprzez ścieżkę SMAD. SMAD 2 lub SMAD 3 podlega fosforylacji pod wpływem TGFβ, który związany jest z receptorem. Ufosforylowany SMAD 2 lub SMAD 3 tworzy kompleks ze SMAD 4, który po przemieszczeniu do jądra komórkowego wiąże się z białkiem wiążącym DNA, modulując tym samym ekspresję genów.

Fig. 3. Signal transduction through SMAD pathway. SMAD2 or SMAD3 are phosphorylated through TGFβ attached to the cell receptor. Phosphorylated SMAD2 or SMAD3 construct a complex with SMAD 4, which transfers to cell nucleus, then attaches to DNA-binding protein thereby modulating gene expression.

aktywację [47]. TGFβ, działając na zapalny fenotyp M1, powoduje jego „przesunięcie” w kierunku mikrogleju M2, czego efektem jest obniżenie ekspresji MHC II oraz produkcji ROS, IL-1, IL-6 i TNFα [47]. Udowodniono również, że farmakologiczne zahamowanie ekspresji TGFβ w komórkach mikrogleju zmniejsza ekspresję wskaźników alternatywnej aktywacji, takich jak arginaza 1 oraz Ym1 (*chitinase 3-like 3*) [39]. TGFβ dodawany bezpośrednio do prowadzonych *in vitro* hodowli mikroglejowych hamuje klasyczną aktywację indukowaną przez LPS, co jest kolejnym dowodem, że cytokina ta stanowi istotny element utrzymujący mikroglej w stanie labilnej równowagi [39].

TGFβ, którego źródłem są komórki mikrogleju, promuje mechanizmy związane z neurogenezą, różnicowaniem, proliferacją oraz naprawą uszkodzonych komórek, a także bierze udział w modulacji odpowiedzi immunologicznej w układzie nerwowym [39,54]. Obserwacje prowadzone na myszach pozbawionych genu dla TGFβ (*knock-out*) pokazały, że brak jego protekcyjnego wpływu doprowadza do nadmiernej odpowiedzi układu immunologicznego, manifestującej się niewydolnością wielonarządową i przedwczesną śmiercią homozygotycznych myszy [39]. W mechanizmie autokrynnym TGFβ nasila również ekspresję

fibronektyny oraz integryny β5 w komórkach mikrogleju [39].

Fibronektyna odpowiada za zwiększenie zdolności adhezyjnych tych komórek oraz hamuje uwalnianie IL-1β w procesie ich klasycznej aktywacji [39]. Integryna β5 pełni natomiast funkcję receptora odpowiadającego za wykrywanie i pobudzanie komórek mikrogleju do fagocytozy fragmentów powstałych w wyniku apoptozy innych komórek mózgu [39]. Badania prowadzone przez Zhou (2012) wskazują, że TGFβ z jednej strony chroni komórki OUN w razie jego niedokrwienia, z drugiej jednak, w przypadku chorób neurodegeneracyjnych, może nasilać gromadzenie się depozytów amyloidu β w neuronach w przebiegu choroby Alzheimera [47].

Przeciwwzajemne efekty IL 1β

Interleukina 1 (IL-1) znana jest głównie ze swojego niekorzystnego działania promującego i podtrzymującego proces zapalny oraz przyczyniającego się do degeneracji OUN. Jednak w ostatnim czasie zwrócono również uwagę na jej działanie przeciwwzajemne oraz promujące procesy regeneracyjne i naprawcze tkanki nerwowej.

Interleukina 1 (IL-1) jest zaliczana do cytokin prozapalnych, które przyczyniają się do zaostrzenia i podtrzymywania procesu zapalnego oraz neurodegeneracji, a jej największym źródłem w OUN są komórki mikrogleju [40]. Badania ostatnich lat wskazują, że cytokina ta przyczyniać się może również do regeneracji i naprawy tkanki nerwowej [40]. W trakcie działania bodźca uszkodzającego oraz już po uszkodzeniu IL-1, wraz z innymi potencjalnie prozapalnymi cytokinami, tlenkiem azotu i ROS, jest wydzielana w następstwie klasycznej aktywacji komórek mikrogleju. Czynniki te nasilają apoptozę neuronów i powodują wtórne zwiększenie odpowiedzi zapalnej [40]. Dodatkowo IL-1 w bezpośredni sposób stymuluje astrocyty, które gromadzą się wokół miejsca uszkodzenia i powodują powstanie blizny glejowej, mogącej w efekcie hamować procesy dalszej naprawy i regeneracji neuronów [40].

Na podstawie najnowszych danych literaturowych należy stwierdzić, że IL-1 będąc jedną z klasycznych cytokin prozapalnych działa również pozytywnie i bezpośrednio przyczynia się do regeneracji neuronów [40].

Obecnie wyróżnia się dwa podtypy tej cytokiny: IL-1 α , która jest wydzielana konstytutywnie, oraz IL-1 β , której ekspresja indukowana jest podczas uszkodzenia tkanki [40]. Badania wykazały, że IL-1 β ogranicza proces odkładania się amyloidu β w OUN, a redukcja ilości amyloidu- β -40 i amyloidu- β -42 jest wprost proporcjonalna do czasu trwania podwyższonej ekspresji IL-1 β [55]. Obecność IL-1 β w obrębie uszkodzonego rdzenia kręgowego warunkuje właściwą proliferację i wczesne różnicowanie się progenitorowych komórek nerwowych w dojrzałe neurony [40]. Udowodniono, że właśnie IL-1 β indukuje powstanie mikrogleju o fenotypie przeciwzapalnym M2b, który wytwarza TNF α oraz IL-10 [40]. Aktywuje ona również limfocyty Th2, które biorą następnie udział w hamowaniu odpowiedzi zapalnej będącej skutkiem doświadczalnego niedokrwienia, a wraz z tlenkiem azotu i TNF α cytokina ta nasila procesy związane z neuroregeneracją [40].

Interesujące efekty działania IL-1 β opisano w doświadczeniu, w którym eksperymentalnie uszkodzono rdzeń kręgowy u myszy pozbawionych genu odpowiedzialnego za ekspresję IL-1 (*knock-out*). Co ciekawe, u zwierząt tych wykazano mniejsze nasilenie zmian będących bezpośrednim efektem uszkodzenia rdzenia kręgowego oraz mniejsze nacieczenie komórkami zapalnymi miejsca uszkodzenia. W kolejnej obserwacji odnotowano również zmniejszoną ilość alternatywnie aktywowanego mikrogleju.

Na podstawie tych obserwacji uważa się, że IL-1, wydzielana przez komórki mikrogleju oraz inne komórki zaangażowane bezpośrednio w proces zapalny, z jednej strony nasila ten proces, m.in. poprzez ułatwianie rekrutacji monocytów krwi obwodowej

do miejsca uszkodzenia (droga zależna od MyD88), z drugiej zaś zwiększa ekspresję TNF α w komórkach mikrogleju, który wykazuje działanie neuroprotektyjne [40].

Obecność IL-1 β w OUN sprzyja naprawie uszkodzonej tkanki oraz poprawia odpowiedź przeciwzapalną komórek mikrogleju poprzez „promowanie” ich alternatywnego fenotypu w odpowiedzi na uszkodzenie. Jednym z dowodów na to jest wzrost stężenia Ym1, markera alternatywnej drogi aktywacji, który u myszy z zachowaną ekspresją IL-1 okazuje się większy niż u myszy pozbawionych genu dla IL-1 [40]. Wydaje się jednak, że opisane efekty działania tej cytokiny nie wynikają z jej bezpośredniego oddziaływania na sam mikroglej lub inne komórki zaangażowane w proces zapalny, ale są skutkiem jej pośredniego wpływu na zwiększenie wydzielania IL-4 przez limfocyty [40].

Pomimo wielu niekorzystnych działań IL-1 udowodniono, że jej niezaburzony poziom ekspresji warunkuje prawidłową proliferację i wczesne różnicowanie progenitorów komórek nerwowych podczas embrionalnego rozwoju rdzenia kręgowego, co obserwuje się również po jego urazie w trakcie trwania życia osobniczego [40]. Wzrost ekspresji IL-1 w uszkodzonej tkance nerwowej koreluje ze zmniejszeniem obszaru uszkodzenia oraz zwiększeniem wskaźników neurogenezy [40].

Napoli i wsp. w swoich badaniach zwrócili uwagę na pozytywne efekty wynikające z działania tej cytokiny. U myszy, u których wyłączono ekspresję IL-1, proces demielinizacji występujący po uszkodzeniu przebiegał znacznie wolniej niż u zwierząt kontrolnych. Zjawisko to wiąże się z niską ekspresją insulinopodobnego czynnika wzrostu (*insulin growth factor 1 – IGF-1*), którego obecność poprawia przeżycie, różnicowanie i wzrost oligodendrocytów [28].

Przeciwzapalne efekty interleukiny 6 (IL-6)

Interleukina 6 (IL-6) cechuje się niezwykle szerokim spektrum działania, zatem nie powinien dziwić fakt, iż odgrywa również istotną rolę w hamowaniu procesu zapalnego.

Interleukina 6 jest białkiem składającym się ze 184 aminokwasów, wydzielanym w znacznych ilościach przez komórki mikrogleju [41]. Do wzrostu wydzielania tej cytokiny przyczyniają się takie czynniki, jak aktywność fizyczna, szeroko pojęte czynniki środowiskowe, chorobotwórcze, a także proces starzenia się [41]. IL-6 wykazuje bardzo szerokie, wielokierunkowe spektrum działania [48]. Zdolność do jej ekspresji, obok komórek mikrogleju, wykazują także neurony, astrocyty oraz komórki endotelialne, równocześnie wykazujące ekspresję odpowiednich dla niej receptorów IL-6R i gp130 [48]. Istnieje również rozpuszczalna forma receptora sIL-6R, która powstaje na drodze

ograniczonej proteolizy przy udziale enzymu ADAM17 lub poprzez alternatywny splicing [49]. Poprzez połączenie IL-6 z sIL-6R, przy udziale receptora gp130, możliwa staje się aktywacja komórek nieposiadających IL-6R (*trans-signaling*) [41,49]. Obecnie przyjmuje się, że ten rodzaj oddziaływania wiąże się z prozapalnym działaniem IL-6, natomiast połączenie z IL-6R wykazuje działanie przeciwzapalne [41].

Interleukina 6 wydzielana jest w warunkach naturalnych w odpowiedzi na szeroko rozumiany stres, co obserwować można w uszkodzeniu korzeni grzbietowych rdzenia kręgowego i mózgowia, udarze niedokrwiennym, neuroinfekcjach wirusowych, zapaleniu opon mózgowo-rdzeniowych, chorobie Alzheimera i in. [12,48]. Na podstawie najświeższych doniesień okazuje się jednak, że jej obecność w tych stanach patologicznych nie tyle wiąże się z istotą i progresją uszkodzenia, ile warunkuje powrót uszkodzonej tkanki do stanu sprzed uszkodzenia [48]. Obserwacje takie przeprowadzono na myszach pozbawionych genu odpowiedzialnego za ekspresję IL-6, u których przebieg choroby był wyraźnie dłuższy, obserwowano zmniejszoną ekspresję BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*), zwiększony poziom stresu oksydacyjnego, istotnie upośledzone zahamowanie regeneracji uszkodzonych nerwów oraz istotnie upośledzoną alternatywną aktywację komórek mikrogleju [48].

Podwyższenie ekspresji IL-6 w neuronach oraz komórkach mikrogleju obserwuje się w przebiegu udaru niedokrwiennego mózgu, co spowodowane jest zwiększonym stężeniem glutaminy w OUN oraz depolaryzacją neuronów [48]. Udowodniono, że obecność IL-6 nasila aktywność VEGF, co poprzez indukcję neowaskularyzacji przyspiesza procesy związane z odnową komórek śródbłonna naczyń mózgowych, przy jednoczesnym obniżeniu ekspresji TNF α oraz genów biorących udział w procesie zapalnym i apoptozie [48,56].

Wykazano, że w zespole reperfuzyjii poudarowej IL-6 przywraca prawidłowe współdziałanie sIL-6R i gp130, które zostało upośledzone przez zjawisko poreperfuzyjnej oksydacji. Mechanizm ten obejmuje przywrócenie fosforylacji STAT3 i oddziaływanie na promotor genu Mn-SOD (*manganase superoxide dismutase*) [50]. Zdolność pobudzania neurogenezy przez IL-6 uwarunkowana jest obecnością rozpuszczalnego receptora sIL-6R, który umożliwia prawidłowe różnicowanie się NSC (*neural stem cells*) w dojrzałe neurony w obecności czynnika EGF [49]. IL-6 reguluje również ekspresję receptorów adenylinowych A1, które pełnią m.in. funkcję neuroprotekcijną zarówno w niedokrwienu OUN, jak i innych typach uszkodzeń mózgu [46].

Omówiony wpływ IL-6 na prawidłowe różnicowanie się komórek nerwowych związany jest m.in. z aktywacją receptora gp130, co powoduje fosforylację

RAS-MAPK ERK1/2 oraz kinazy PKA i nasila ekspresję czynnika transkrypcyjnego CREB, który warunkuje dalsze etapy prawidłowej neurogenezy [48,49]. Jak już przedstawiono, IL-6 działa nie tylko na destrukcyjne procesy związane z zapaleniem, ale też bierze udział w procesach warunkujących ograniczenie obszaru uszkodzenia oraz ich regenerację [48,50].

Przeciwzapalne efekty TNF α

Kolejną cytokiną, która do tej pory była postrzegana jako prozapalna, a w ostatnim czasie odnotowano również jej korzystne właściwości, jest czynnik martwicy nowotworu α (*tumor necrosis factor α* – TNF α). Należy do nadrodziny TNF, do której zaliczamy TNF β , nazywany również limfotoksyną α (LT α) [42]. LT α jest strukturalnie podobna do TNF α . Odgrywa istotną rolę w rozwoju i prawidłowym funkcjonowaniu układu immunologicznego, a przede wszystkim w rozwoju narządów limfatycznych na etapie embriogenezy [42].

TNF α jest produkowany w OUN m.in. przez astrocyty i neurony, ale największym źródłem tej cytokiny są komórki mikrogleju [57]. TNF α występuje w formie związanej z błoną komórkową oraz rozpuszczalnej, która uwalniana jest dzięki działaniu wspomnianego już enzymu TACE [57]. TNF α działa poprzez dwa swoiste receptory: TNF-RI (p55) i TNF-RII (p75), których ekspresję wykazano również na powierzchni komórek mikrogleju [57]. Po połączeniu się ze swoimi receptorami TNF aktywuje trzy ścieżki sygnałowe:

- apoptyczną związaną z TRADD (*tumor necrosis factor receptor type 1-associated DEATH domain protein*),
- związaną z Nf κ B,
- związaną z JNK (*c-Jun N-terminal kinase*).

W mózgu TNF α determinuje przebieg wielu fizjologicznych procesów, takich jak rozwój neuronalny, transmisja synaptyczna, przeżycie komórek i homeostaza neuronów w zakresie gospodarki żelazowej [57]. Wykazano, że neuroprotekcyjne działanie TNF α wiąże się z jego wpływem m.in. na receptory typu I (TNFRI/p55). Na tej drodze TNF hamuje apoptozę neuronów w mechanizmie ekscytotoksyczności zależnym od NMDA [43]. Badania przeprowadzone na myszach pozbawionych TNF α oraz receptorów TNFR1 i TNFR2 wskazują na opóźnienie procesów remielinizacji włókien nerwowych po ich wcześniejszym uszkodzeniu, co z kolei wiąże się z zaburzoną proliferacją i prawidłowym funkcjonowaniem dojrzałych oligodendrocytów [28]. Protekcyjna funkcja TNF α związana jest również ze zwiększeniem ekspresji MCP-1 (*monocyte chemoattractant protein-1*), który wpływając na komórki NSC poprzez receptor CCR2 działa jako chemokina indukująca ich migrację [44].

Dodatkowo MCP-1 wykazuje się neuroprotekcją poprzez hamowanie zjawiska ekscytotoksyczności zależnej od NMDA [45].

Badania ostatnich lat wskazują, że ograniczanie wpływu TNF α na OUN niekoniecznie działa pozytywnie. W modelu mysim choroby Alzheimera wykazano, że mikroglej myszy transgenicznych pozbawionych genu receptora dla TNF (TNFR1/R2 KO) wykazuje mniej intensywną alternatywną aktywację oraz zdolność do fagocytozy w zakresie pochłaniania bakterii oraz fragmentów amyloidu β w porównaniu z myszami z aktywnym genem. W modelu tym dowiedziano również, że u myszy tych dochodziło do nasilonego odkładania się amyloidu β oraz hiperfosforylowanego białka tau, co dotyczyło przede wszystkim regionu CA1. Doświadczenie to pokazuje, że niezaburzona ekspresja genów dla receptorów TNF stanowi istotę prawidłowego funkcjonowania oraz aktywności fagocytarnej mikrogleju, która z kolei warunkuje prawidłowy klirens amyloidu β [58].

PODSUMOWANIE

Reasumując należy podkreślić, że rola mikrogleju w OUN wciąż pozostaje słabo poznana, a przez to i niedoceniana. Rozważania przedstawione w niniejszej pracy uświadamiają jednak, że projektowanie nowych rozwiązań terapeutycznych, mających zasto-

sowanie w terapii procesów neurodegeneracyjnych, powinno opierać się na głębszym zrozumieniu podwójnego oblicza opisywanych komórek.

Dzięki badaniom nad mikroglejem i cytokinami przez niego wydzielanymi istnieje również szansa pełniejszego poznania mechanizmów biorących udział w procesach nowotworowych. Dotyczy to zwłaszcza cytokiny CD200, dzięki której, być może już w niedalekiej przyszłości, możliwa będzie skuteczniejsza terapia czerniaka złośliwego.

Warto również podkreślić udział mikrogleju w uszkodzeniu OUN przede wszystkim na podłożu niedokrwinnym. Dzięki poznaniu właściwości fraktalkiny wydzielanej podczas uszkodzenia neuronów przez komórki mikrogleju istnieje szansa na skuteczniejszą terapię deficytów neurologicznych oraz zmniejszenie obszaru uszkodzenia tkanki nerwowej. Daje to szansę na poprawę jakości życia wielu osób, które borykają się z problemem niepełnosprawności powstałej po incydencie niedokrwinnym.

Nadzieje związane są również z wykorzystaniem potencjału regeneracyjnego cytokin prozapalnych w uszkodzeniach rdzenia kręgowego. Ingerencja w mechanizmy działania potencjalnie prozapalnych komórek daje wiele nieznanych dotąd możliwości terapeutycznych. Tylko takie wyrafinowane podejście badawcze umożliwi w przyszłości wydobycie ich konstytutywnych właściwości przeciwzapalnych, natomiast objawowe stosowanie leków, takich jak NLPZ, może istotnie wydłużyć powrót do zdrowia.

PIŚMIENNICTWO

- Banati R.B., Gehrman J., Schubert P., Kreutzberg G.W. Cytotoxicity of Microglia. *Glia* 1993; 7(1): 111–118.
- McGeer P.L., Kawamata T., Walker D.G., Akiyama H., Tooyama I., McGeer E.G. Microglia in Degenerative Neurological Disease. *Glia* 1993; 7(1): 84–92.
- Rozenmuller J.M., Valk P. van der, Eikelenboom, P. Activated microglia and cerebral amyloid deposits in Alzheimer's disease. *Res. Immunol.* 1992; 143: 646–650.
- Giulian D., Baker T.J. Characterization of Amoeboid Microglia Isolated from Developing Mammalian Brain. *J. Neurosci.* 1986; 6: 2163–2178.
- Ghorpade A., Gendelman H.E., Kipins J. Macrophages, Microglia and Dendritic Cells. In: *Neuroimmune Pharmacology*. Eds. Ikezu T., Gendelman H.E. Springer, USA 2008, 89–100.
- Chan W.Y., Kohsaka S., Rezaie P. The origin and cell lineage of microglia – New concepts. *Brain Res. Rev.* 2007; 53: 344–354.
- Ling E.A., Wong W.C. The origin and nature of ramified and amoeboid microglia: A historical review and current concepts. *Glia* 1993; 7: 9–18.
- Boya J., Calvo J.L., Carbonell A.L., Borregon A. A lectin histochemistry study on the development of rat microglial cells. *J. Anat.* 1991; 175: 229–236.
- Moskalewski S. Tkanka nerwowa. W: Stevens A., Lowe J. *Histologia człowieka*. PZWŁ, Warszawa 2000, 77–98.
- Kaur C., Hao A.J., Wu C.H., Ling E.A. Origin of Microglia. *Microsc. Res. Tech.* 2001; 54: 2–9.
- Ling E.A., Tan C.K. Amoeboid microglial cells in the corpus callosum of neonatal rats. *Arch. Histol. Jpn.* 1974; 36: 265–280.
- Stokłosa T. Psychoneuroimmunologia. W: Jakóbsiak M. *Immunologia*. PWN, Warszawa 1998, 387–398.
- Kettnemann H., Banati R., Walz W. Electrophysiological Behavior of Microglia. *Glia* 1993; 7: 93–101.
- Cameron B., Landreth G.E. Inflammation, microglia, and Alzheimer's disease. *Neurobiol. Dis.* 2010; 37: 503–509.
- Becher B., Prat A., Antel J.P. Brain – Immune Connection: Immunoregulatory Properties of CNS – Resident Cells. *Glia* 2000; 29: 293–304.
- Gehrman J., Gold R., Linington Ch., Lannes-Vieira J., Wekerle H., Kreutzberg G.W. Microglial Involvement in Experimental Autoimmune Inflammation of the Central and Peripheral Nervous System. *Glia* 1993; 7: 50–59.
- Theele D.P., Streit W.J. A Chronicle of Microglial Ontogeny. *Glia* 1993; 7: 5–8.
- Kohman R.A., Rhodes J.S. Neurogenesis, inflammation and behavior. *Brain Behav. Immun.* 2013; 27C: 22–32.
- Hanamsagar R., Torres V., Kielian T. Inflammasome activation and IL-1 β /IL-18 processing are influenced by distinct pathways in microglia. *J. Neurochem.* 2011; 119: 736–748.
- Sawada H., Hishida R., Hirata Y. i wsp. Activated microglia affect the nigro-striatal dopamine neurons differently in neonatal and aged mice treated with 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *J. Neurosci. Res.* 2007; 85: 1752–1761.
- Cao T., Thomas T.C., Ziebell J.M., Pauly J.R., Lifshitz J. Morphological And Genetic Activation Of Microglia After Diffuse Traumatic Brain Injury in the Rat. *Neuroscience* 2012; 225: 65–75.
- Karlstetter M., Walczak Y., Weigelt K. i wsp. The Novel Activated Microglia/Macrophage WAP Domain Protein, AMWAP, Acts as a Counter-Regulator of Proinflammatory Response. *J. Immunol.* 2010; 185: 3379–3390.
- Tansey M.G., Goldberg M.S. Neuroinflammation in Parkinsons disease – It's role in neuronal death and implications for therapeutic intervention. *Neurobiol. Dis.* 2010; 37: 510–518.
- Napoli I., Neumann H. Protective effects of microglia in multiple sclerosis. *Exp. Neurol.* 2010; 225(1): 24–28.
- Schwartz M., Shechter R. Systemic inflammatory cells fight off neurodegenerative disease. *Nat. Rev. Neurol.* 2010; 6: 405–410.
- Ma T.C., Buescher J.L., Oatis B. i wsp. Metformin therapy in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *Neurosci. Lett.* 2007; 411: 98–103.
- Colton C.A., Mott R.T., Sharpe H., Xu Q., Van Nostrand W.E., Vitek M.P. Expression profiles for macrophage alternative activation genes in AD and in mouse models of AD. *J. Neuroinflammation* 2006; 27; 3: 27.

28. Hanisch U.K., Kettenmann H. Microglia: active sensor and versatile effectors cells in the normal and pathologic brain. *Nat. Neurosci.* 2007; 10: 1387–1394.
29. Heneka M.T., Kummer M.P., Stutz A. i wsp. NLRP3 is activated in Alzheimer's disease and contributes to pathology in APP/PS1 mice. *Nature* 2013; 493: 674–678.
30. Cerbai F., Lana D., Nosi D. i wsp. The Neuron-Astrocyte-Microglia Triad in Normal Brain Ageing and in a Model of Neuroinflammation in the Rat Hippocampus. *PLoS One* 2012; 7: e45250.
31. Lucin K.M., O'Brien C.E., Bieri G. i wsp. Microglial Beclin 1 Regulates Retromer Trafficking and Phagocytosis and Is Impaired in Alzheimer's Disease. *Neuron* 2013; 79: 873–886.
32. Labuzek K., Gabryel B., Okopień B. Metformin as a key to alternative activation of microglia? *Postepy Hig. Med. Dosw. (online)* 2014; 68: 247–257.
33. Yi M.H., Zhang E., Kanq J.W. i wsp. Expression of CD200 in alternative activation of microglia following an excitotoxic lesion in the mouse hippocampus. *Brain Res.* 2012; 1481: 90–96.
34. Varnum M.M., Ikezu T. The classification of microglia Activation phenotypes on neurodegeneration and regeneration in Alzheimer's disease. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)* 2012; 60(4): 251–266.
35. Pabon M.M., Bachstetter A.D., Hudson C.E., Gemma C., Bickford P.C. CX3CL1 reduces neurotoxicity and microglial activation in a rat model of Parkinson's disease. *J. Neuroinflammation* 2011; 8: 9.
36. Owłasiuk P., Zajkowska J.M., Pietruczuk M., Pancewicz S.A., Hermanowska-Szapkowicz T. Fraktalkina – budowa, własności i biologiczna rola. *Pol. Merkuriusz Lek.* 2009; 26(153): 253–257.
37. Cipriani R., Villa P., Cece G. i wsp. CX3CL1 Is Neuroprotective in Permanent Focal Cerebral Ischemia in Rodents. *J. Neurosci.* 2011; 31: 16327–16335.
38. Spittau B., Wullkopf L., Zhou X., Rilka J., Pfeifer D., Kriegelstein K. Endogenous Transforming Growth Factor-Beta Promotes Quiescence of Primary Microglia in Vitro. *Glia* 2013; 61: 287–300.
39. Zhou X., Spittau B., Kriegelstein K. TGF beta signalling plays an important role in IL-4-induced alternative activation of microglia. *J. Neuroinflammation* 2012; 9: 210.
40. Sato A., Ohtaki H., Tsumuraya T. i wsp. IL-1 participates in the classical and alternative activation of microglia/macrophages after spinal cord injury. *J. Neuroinflammation* 2012; 9: 65.
41. Matousek S.B., Ghosh S., Shafiq S.S., Kyrkanides S., Olschowka J.A., O'Banion M.K. Chronic IL-1 β -mediated neuroinflammation mitigates amyloid pathology in a mouse model of Alzheimer's disease without inducing overt neurodegeneration. *J. Neuroimmune Pharmacol.* 2012; 7: 156–164.
42. Rose-John S. IL-6 trans-signaling via the soluble IL-6 receptor: importance for the pro-inflammatory activities of IL-6. *Int. J. Biol. Sci.* 2012; 8: 1237–1247.
43. Erta M., Quintana A., Hidalgo J. Interleukin-6, a Major Cytokine in the Central Nervous System. *Int. J. Biol. Sci.* 2012; 8: 1254–1266.
44. Islam O., Gong X., Rose-John S., Heese K. Interleukin-6 and Neural Stem Cells: More Than Gliogenesis. *Mol. Biol. Cell.* 2009; 20: 188–199.
45. Swartz K.R., Liu F., Sewell D. Interleukin-6 promotes post-traumatic healing in the central nervous system. *Brain Res.* 2001; 896: 86–95.
46. Jung J.E., Kim G.S., Chan P.H. Neuroprotection by interleukin-6 is mediated by signal transducer and activator of transcription 3 and antioxidative signaling in ischemic stroke. *Stroke* 2011; 42: 3574–3579.
47. Biber K., Pinto-Duarte A., Wittendorp M.C. Interleukin-6 upregulates neuronal adenosine A1 receptors implications for neuromodulation and neuroprotection. *Neuropsychopharmacology* 2008; 33: 2237–2250.
48. Calmon-Hamaty F., Combe B., Hahne M., Morel J. Lymphotoxin α revisited: general features and implications in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res. Ther.* 2011; 13: 232.
49. Park K.M., Bowers W.J. TNF α mediated signaling in neuronal homeostasis and dysfunction. *Cell Signal.* 2010; 22: 977–983.
50. Carlson N.G., Wieggl W.A., Chen J., Bacchi A., Rogers S.W., Gahring L.C. Inflammatory Cytokines IL-1 α , IL-1 β , IL-6, and TNF- α Impart Neuroprotection to an Excitotoxin Through Distinct Pathways. *J. Immunol.* 1999; 163: 3963–3968.
51. Widera D., Holtkamp W., Entschladen F. i wsp. MCP-1 induces migration of adult neural stem cells. *Eur. J. Cell. Biol.* 2004; 83: 381–387.
52. Gonzalez-Perez O., Jauregui-Huerta F., Galvez-Contreras A.Y. Immune system modulates the function of adult neural stem cells. *Curr. Immunol. Rev.* 2010; 6: 167–173.
53. Montgomery S.L., Mastrangelo M.A., Habib D. i wsp. Ablation of TNF-R1/RII Expression in Alzheimer's Disease Mice Leads to an Unexpected Enhancement of Pathology Implications for Chronic Pan-TNF- α Suppressive Therapeutic Strategies in the Brain. *Am. J. Pathol.* 2011; 179: 2053–2070.