

lek. Grzegorz Niemczyk

**Ekspresja receptorów TLR w modelu zwierzęcym przeszkody
podpęcherzowej**

**Streszczenie rozprawy na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne**

Przeszkoda podpęcherzową (BOO) oraz związane z nią objawy z dolnych dróg moczowych (LUTS) występują u ponad 20% populacji osób dorosłych. Etiologia BOO jest bardzo zróżnicowana, jednak najczęściej jej przyczynę u mężczyzn stanowi łagodny rozrost gruczołu krokowego. Przewlekłe utrzymująca się przeszkoda podpęcherzowa oprócz dolegliwości upośledzających jakość życia może doprowadzić do nieodwracalnych zmian w budowie i czynności pęcherza moczowego. Zmiany patofizjologiczne rozpoczynają się fazą zapalną, po której następuje faza kompensacji charakteryzująca się hipertrofią mięśni pęcherza moczowego i ostatecznie faza dekompensacji z włóknieniem tkanek pęcherza moczowego i upośledzeniem jego czynności. Potencjalną przyczyną indukcji stanu zapalnego w tym narządzie prowadzącą do nieodwracalnych powikłań może być aktywacja receptorów TLR będących częścią nieswoistego mechanizmu odporności organizmu. Receptory TLR mogą być pobudzone zarówno poprzez drobnoustroje chorobotwórcze, jak i przez cząsteczki pochodzące z uszkodzonych komórek. W leczeniu LUTS spowodowanych łagodnym rozrostem gruczołu krokowego stosuje się antagonistów receptorów α_1 adrenergicznych. Blokada receptorów α_1 adrenergicznych może zmniejszać poziom stanu zapalnego, potencjalnie przez zjawisko cross-talk z receptorami TLR.

Celem rozprawy doktorskiej była ocena ekspresji receptorów TLR 4 i TLR 9 w modelu zwierzęcym przeszkody podpęcherzowej, których aktywacja może potencjalnie prowadzić do nieodwracalnych zmian w pęcherzu moczowym. Oceniony został także wpływ powszechnie stosowanych leków w tej jednostce chorobowej z grupy α_1 -blokerów na ekspresję receptorów TLR 4 i TLR 9 oraz na wykładniki stanu zapalnego. Dodatkowo zbadano poziom ekspresji receptorów

Uchrona

G. Niemczyk

α 1 adrenergicznych w pęcherzu moczowym celem oceny możliwości wystąpienia zjawiska cross-talk z receptorami TLR.

Badania przeprowadzono na 32 szczurach Sprague Dawley płci męskiej w wieku 9 tygodni. Zwierzęta zostały losowo podzielone na 4 grupy doświadczalne, po 8 szczurów w każdej z nich.

Grupa I (SOP) szczury poddane operacji pozorowanej przeszkody podpęcherzowej otrzymujące placebo (wodę);

Grupa II (SOB) - szczury poddane operacji pozorowanej przeszkody podpęcherzowej otrzymujące α 1-bloker (tamsulozynę) przez 15 dni;

Grupa III (PPP) - szczury poddane operacji przeszkody podpęcherzowej otrzymujące placebo;

Grupa IV (PPB) - szczury poddane operacji przeszkody podpęcherzowej otrzymujące α 1-bloker przez 15 dni.

Po 15 dniach od operacji szczury umieszczono w klatkach metabolicznych, następnie pobrano od nich mocz i krew żylną oraz poddano je eutanazji. Pobrano *en bloc* pęcherz moczowy do dalszych badań histologicznych i biochemicznych. Wykonano jakościową i ilościową ocenę poziomu stanu zapalnego, ekspresji receptorów TLR 4, TLR 9 oraz α 1 adrenergicznych. Przeanalizowano stężenia interleukiny 1 β (IL-1 β), interleukiny 6 (IL-6) i interleukiny 18 (IL-18) w osoczu i moczu jako wykładników stanu zapalnego u szczurów.

W ocenie jakościowej badania immunohistochemicznego stwierdzono reaktywność cytoplazmatyczną receptorów TLR 4 w urotelium i warstwie mięśniowej pęcherza moczowego we wszystkich grupach szczurów. Receptor TLR 9 uległ reaktywności cytoplazmatycznej jedynie w urotelium w grupach SOB, PPP i PPB. Reaktywność cytoplazmatyczna i jądrowa receptora α 1 adrenergicznego w badaniu immunohistochemicznym cechowała się zróżnicowaniem pomiędzy grupami szczurów zarówno w urotelium i w warstwie mięśniowej. W ocenie ilościowej badania immunohistochemicznego w grupie szczurów PPP obserwowano istotny wzrost ekspresji receptorów TLR 4 i TLR 9 w urotelium pęcherza moczowego. Z kolei przeszkoda podpęcherzowa nie wpływała na ekspresję receptorów TLR 4 i TLR 9 w warstwie mięśniowej pęcherza moczowego. Podanie α 1-blokera nie miało istotnego wpływu na poziom ekspresji receptorów TLR 4 i TLR 9 w grupie PPB w porównaniu do PPP. W tkankach pęcherza moczowego szczurów z grupy PPP stwierdzono nacieki komórek jednojądrzastych charakterystycznych dla przewlekłego

stanu zapalnego, które były istotnie większe w porównaniu do grupy SOP. Zastosowanie $\alpha 1$ -blokera nie zmniejszyło istotnie nacieków zapalnych w pęcherzu moczowym szczurów w grupie PPB w porównaniu do grupy PPP.

Odzwierciedleniem obserwowanego stanu zapalnego był wzrost stężenia IL-1 β w osoczu oraz IL-6 w osoczu i moczu szczurów w grupie PPP w porównaniu do SOP. Podanie $\alpha 1$ -blokera u szczurów z BOO zmniejszyło stężenie IL-6 w moczu oraz IL-18 w osoczu i moczu.

Wnioski

1. Ekspresja receptora TLR 4 oraz receptora TLR 9 ulega wzrostowi w komórkach urotelium pęcherza moczowego szczurów Sprague Dawley z przeszkodą podpęcherzową, co może wskazywać na udział tych receptorów w procesach patofizjologicznych w obrębie pęcherza moczowego pod wpływem BOO.
2. Receptory $\alpha 1$ adrenergiczne, wraz z receptorami TLR 4 i TLR 9, obecne są w tych samych warstwach pęcherza moczowego szczurów Sprague Dawley, co stwarza możliwość wystąpienia zjawiska cross-talk pomiędzy nimi.
3. Przeszkoda podpęcherzowa, w ciągu 15 dni od jej wywołania, indukuje rozwój przewlekłego stanu zapalnego w pęcherzu moczowym i powoduje wzrost stężenia IL-1 β w osoczu oraz IL-6 w osoczu i w moczu u szczurów Sprague Dawley.
4. Przewlekła blokada receptorów $\alpha 1$ adrenergicznych nie wpływa istotnie na poziom ekspresji receptorów TLR 4 i TLR 9 w pęcherzu moczowym szczurów Sprague Dawley z przeszkodą podpęcherzową, natomiast powoduje zmniejszenie stężenia niektórych wykładników stanu zapalnego w osoczu i moczu.

Podsumowanie

Uzyskane wyniki sugerują udział receptorów TLR 4 i TLR 9 w indukcji stan zapalnego w pęcherzu moczowym, który stanowi pierwszy etap rozwoju zmian patofizjologicznych w przeszkodzie podpęcherzowej.