

Abstrakt

Interleukín 33 je proteín s duálnou funkciou, ktorý slúži súčasne ako prozápalový cytokín a zároveň funguje ako intracelulárny jadrový faktor. V úlohe cytokínu sa IL-33 naväzuje na ST-2 receptor a v cieľových bunkách, medzi ktoré patria napr. mastocyty, bazofily, eozinofily, a NK-bunky indukuje produkciu cytokínov spojených s Th2 typom imunitnej odpovede. Ako jadrový faktor sa naväzuje na chromatín a reguluje transkripciu niektorých prozápalových génov. Regulácia týchto procesov zatiaľ nie je známa, uspokojivo objasnené nie sú ani mechanizmy zodpovedné za syntézu, štiepenie a sekréciu IL-33. Cieľom našej práce bolo preveriť viaceré mechanizmy, ktoré by sa mohli podieľať na regulácii produkcie IL-33 a jeho sekrécie mimo bunku. Najskôr sme zisťovali, či má na sekréciu IL-33 vplyv stimulácia prostredníctvom cytokínov TNF α , IFN γ , IL-1 β , IL-13, IL-33, TGF- β a IL-10 alebo stimulácia prostredníctvom LPS izolovaného z *E. coli*. Ďalej sme overovali, či IL-33 patrí medzi tzv. alarmíny, takže by mal byť z buniek uvoľňovaný pri poškodení či nekróze. Bunky boli stimulované prostredníctvom LPS a nekrózu sme indukovali pomocou viacerých cyklov zmrazovania a rozmrazovania. Okrem prítomnosti IL-33 bola testovaná aj prítomnosť cytokínov IL-1 α a IL-1 β . V našich experimentoch sme ako modelové bunky používali bunkovú líniu A549 (alveolar type II-like cells) a THP-1 promonocytovú bunkovú líniu, ktorú sme diferencovali prostredníctvom kalcitriolu na monocytovú líniu THP-1dif. Úspešnosť diferenciácie sme potvrdili testovaním buniek na prítomnosť povrchovej molekuly CD-14, merania prebiehali pomocou prietokového cytometra. Hladiny cytokínov v supernatantoch buniek boli merané technológiou Luminex alebo metódou ELISA. Napriek mnohým experimentom sa nám nepodarilo v supernatantoch buniek identifikovať IL-33. Naše dáta ukázali, že cytokíny ani LPS nemajú schopnosť indukovať u buniek sekréciu IL-33. Vplyv nekrózy na prítomnosť IL-33 mimo bunky nebol potvrdený. Epiteliálne bunky A549 konštitutívne produkovali IL-1 β . Stimulácia prostredníctvom LPS ani nekróza neovplyvnili množstvo IL-1 β v supernatantoch A549. U oboch monocytových línií bol zistený významný efekt stimulácie prostredníctvom LPS na koncentráciu IL-1 β v supernatantoch, taktiež vďaka nekróze sa hladina IL-1 β v supernatantoch zvýšila. Dynamika expresie IL-1 α zistená našimi experimentami potvrdila, že IL-1 α slúži ako alarmín.