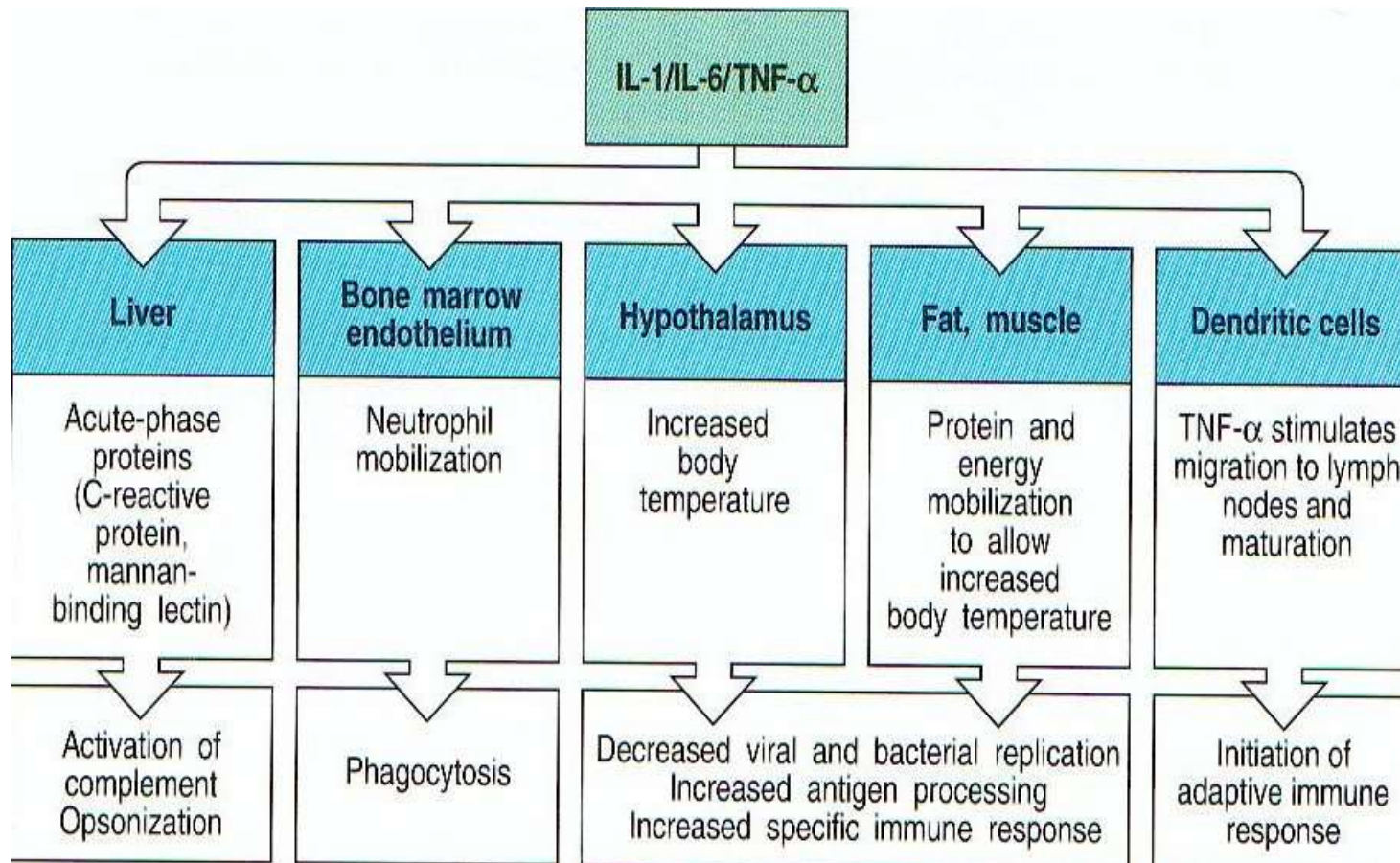
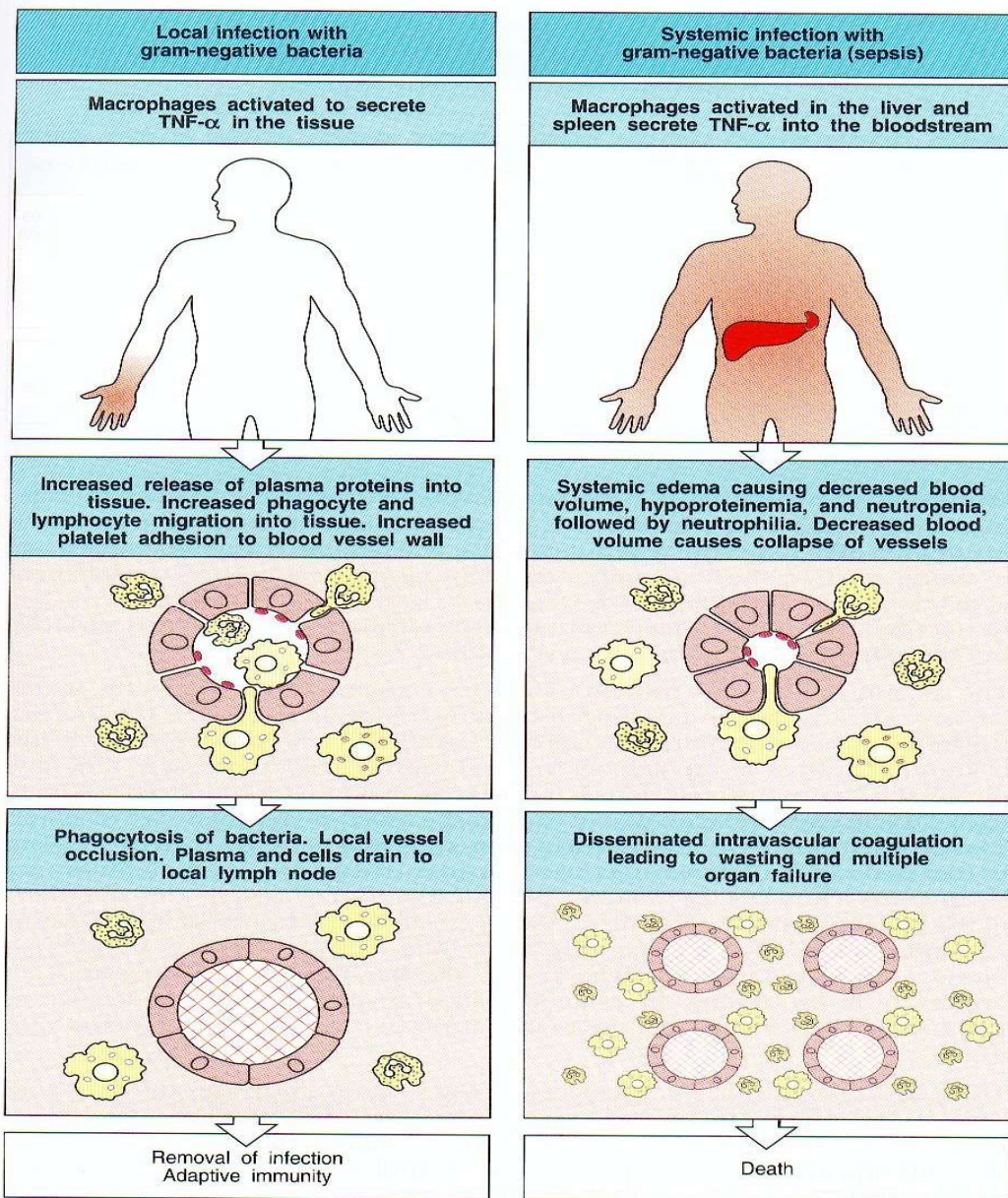


# **Mechanizmy zapalenia w tkance tłuszczowej**

Prof. dr hab. n.med. Jacek Michałkiewicz  
Pracownia Diagnostyki Immunologicznej  
Zakład Mikrobiologii Immunologii Klinicznej



**Zapalenie systemowe :** cytokiny produkowane przez makrofagi tkanek objętych zapaleniem ( **TNF-alfa, IL-1, IL-6**) przechodzą do krążenia i wykazują szerokie zakres aktywności biologicznych: Indukują hepatocyty do produkcji białek ostrej fazy, a szpik kostny do produkcji granulocytów, działają pirogenie (podnoszą temp), mobilizują procesy energetyczne mięśni i tkanki tłuszczowe. Wzrost temperatury obniża replikację bakterii i wirusów i mobilizuje adaptacyjny układ odpornościowy.



## Uwalnianie TNF-alfa przez makrofagi:

**Efekt lokalny lub uogólniony.**

**TNF wpływa na naczynia krwionośne, szczególnie żyłne, zwiększa przepływ krwi i przepuszczalność naczyń dla płynu, komórek oraz białek, wzmacnia przyczepność endotelium dla komórek i płytek.**

**Lokalny efekt TNF zwiększa napływ płynu, komórek oraz białek uczestniczących w reakcjach odpornościowych.**

**Tworzą się skrzepy w małych naczyniach zapobiegające rozprzestrzenianiu się infekcji drogą krwi. Płyn oraz makrofagi i komórki dentrytyczne przechodzą do ww chłonnych, gdzie generowana jest adaptacyjna odpowiedź na infekcję**

**W przypadku systemowego uwalniania TNF (sepsa, infekcja uogólniona) TNF z makrofagów wątroby i śledziony przechodzi do krążenia.**

**Szok septyczny, wykrzepianie wewnątrznaczyniowe rozsiane, utrata czynników krzepnięcia, krwawienie wewnątrzustrojowe, wielonarządowa dysfunkcja.**

**Otyłość tj. Nadmiar tkanki tłuszczowej, (zwłaszcza trzewnej)** wiąże z szeregiem zaburzeń metabolicznych tj, hyperinsulinemią, nietolerancją glukozy, cukrzyca typu 2 oraz dyslipidemia. Zburzenia te w dużym stopniu zależą od przewlekłych, systemowych reakcji pro-zapalnych o niskim nasileniu (**zapalenie metaboliczne**) których skutkiem jest inaktywacja (w różnym stopniu) receptora dla insuliny oraz zmiany w zakresie dystrybucji i aktywacji tkanki tłuszczowej.

Zmiany pro-zapalne w tkance tłuszczowej zależą od aktywacji szeregu komórek, tj adipocytów, makrofagów, limfocytów, komórek tucznych, eozynofiliów, fibroblastów oraz endotelium naczyniowego. Ich liczebność oraz fenotyp w tkance tłuszczowej zależy od jej rodzaju (trzewna lub obwodowa) oraz nasilenia otyłości. Komórki te generują szereg mediatorów zapalenia, tj. **adipokiny pro-zapalne** (leptyna, rezystyna, visfatyna) **przeciw-zapalne** (adiponektyna), cytokiny **pro-zapalne** (TNF alfa, IL-1 beta, IL-6, IL-12, IL-18, IFN-gamma, etc) i **przeciw-zapalne** ( IL-4, IL-10, IL-13, TGF-beta, etc) oraz **chemokiny** (MCP-1, MIP-1 alfa, IL-8, RANTES, etc). Ich działanie determinuje typ zapalenia i rodzaj komórek zaangażowanych w reakcjach zapalnych.

Zapalenie w tkance tłuszczowej **inicjowane** jest przez : **hipoksję adipocytów, stres oksydacyjny, stres siateczki endo-plazmatycznej, aktywację inflamasomów, obumieranie adipocytów, aktywację receptorów Toll, zmiany w zakresie składu mikroflory jelitowej**

- 1) **Hipoksja adipocytów:** indukowana przez niedostateczne unaczynienia tkanki tłuszczowej z powodu jej przerostu (hypertrofia, hiperplazja); **hipoksja** indukuje uwalnianie cytokin pro-zapalnych, leptyny oraz czynnika hamującego migrację makrofagów, hamuje różnicowanie pre-adipocytów w adipocyty, wzmacnia reaktywność pro-zapalne makrofagów.,
- 2) **stres oksydacyjny** generowany przez chroniczny stan zapalny oraz nadmiar wolnych kwasów tłuszczowych i glukozy w tkance tłuszczowej; wzrost ROS (reaktywne formy tlenu) aktywuje endotelium i uruchamia napływ makrofagów, wzmacnia ekspresję mediatorów pro-zapalnych, insulinooporność oraz generowanie utlenowanych lipoprotein o niskiej gęstości (ox LDLs)

**3. Stres siateczki śródplazmatycznej (endoplasmic reticulum , ER) :** indukowany przez nadmiar lipidów i białek powoduje zmiany w zakresie modyfikacji post-translacyjnej białek w adipocytach i wadliwego ich fałdowania w świetle siateczki, co aktywuje odpowiedź adaptacyjną na wadliwie złożone białko (unfolded protein response, **UPR**) dla przywrócenia homeostazy w ER. Stres **ER** i reakcja **UPR** powodują:

a) wzrost ekspresji mediatorów zapalenia oraz insulinooporność, b) nasilenie procesów apoptozy adipocytów i wzrost napływu makrofagów pro-zapalnych do tkanki tłuszczowej (eliminacja obumarłych adipocytów), c) modyfikację ekspresji adipokin (wzrost produkcji leptyny, rezystyn , spadek adiponektyny) oraz oporność na działanie leptyny, d) wzmacnia procesy stłuszczenia w wątrobie, osłabia syntezę insuliny , nasila apoptozę komórek beta trzustki,

**4.aktywacja inflamasomów:** inflamasomy to są to platformy molekularne obecne w cytozolu, odpowiedzialne za proces aktywacji pro-zapalnych cytokin (IL-1 beta oraz IL-18). Najbardziej znanym jest inflamasom **NLRP3**. Składa się z receptora NLR (NOD-like receptor), białka adaptorowego ASC (apoptosis-associated speck-like protein containing CARD) oraz kaspazy 1. **NLRP3** należy do grupy receptorów komórkowych rozpoznających wzorce molekularne uszkodzonych tkanek (damage associated molecular pattern, DAMPs) lub czynników w infekcyjnych (pathogen associated molecular pattern, PAMPs). Aktywacja NLRP3 powoduje przekształcenie nieaktywnych form IL-1 beta i IL-18 w formy aktywne , poprzez działanie kaspazy 1. **Otyłość wzmacnia ekspresję składników NLRP3** (kaspaza 1, cząsteczka ASC) w makrofagach i adipocytach, co indukuje uwalnianie aktywnych form IL-1 beta i IL-18. **Dieta nisko kaloryczna obniża ekspresję ASC i kaspazy 1 oraz IL-1beta w adipocytach i makrofagach. Myszy z brakiem ekspresji NLRP3 nie wykazują otyłości indukowanej dietą wysoko tłuszczową.**

## Nasilone obumieranie adipocytów w otyłości

Obumieranie adipocytów zachodzi poprzez proces **apoptozy lub nekrozy**. Rozrost tkanki tłuszczowej nasila ten proces. Apoptotyczne lub nekrotyczne adipocyty usuwane są przez makrofagi (fagocytoza, egzocytoza), co indukuje masowy napływ tych komórek do tkanki tłuszczowej, wzrost ekspresji cytokin pro-zapalnych, odsłanianie nowych wzorców molekularnych (DAMPs) oraz aktywację inflamasomów i innych receptorów rozpoznających wzorce molekularne.

Usuwanie komórek apoptotycznych, zwłaszcza w obecności adiponektyny, nasila protekcyjne aktywności układu odpornościowego (**produkcja czynników przeciw-zapalnych, aktywacja limfocytów supresorowych**). Eliminacja komórek nekrotycznych wzmacnia aktywności pro-zapalne makrofagów i granulocytów.

## Aktywacja receptorów Toll

Aktywacja TLRs (z wyjątkiem TLR3) przebiega z udziałem białka adaptorowego MyD88 (myeloid differentiation factor 88) i prowadzi do indukcji różnych szlaków sygnałowych które aktywują ekspresję genów dla wielu cytokin pro-zapalnych.

W regulacji zapalenia tkanki tłuszczowej i generowaniu insulinoporności szczególne znaczenie ma ekspresja **TLR2 i TLR4**. **TLR4** rozpoznaje LPS bakterii Gram ujemnych, co indukuje ekspresję cytokin faworyzujących odpowiedź pro-zapalną typu Th1. Przeciwnie, **TLR 2** rozpoznaje lipoproteiny i inne składowe bakterii Gram (+), co uruchamia odpowiedź **Th2** (przeciw-zapalną). Brak ekspresji tych receptorów w układach eksperymentalnych znacznie poprawia wrażliwość na insulinę w tkance tłuszczowej.

Wzrost stężenia nasyconych kwasów tłuszczowych (SFAs) w otyłości pogłębia leptyno-oporność i insulino-oporność. SFAs i ich pochodne (ceramidy, etc) indukują TLR4 adipocytach i makrofagach poprzez działanie kinaz Src i JNK. Zahamowanie syntezy ceramidów poprawia tolerancję glukozy (modele mysie otyłości).

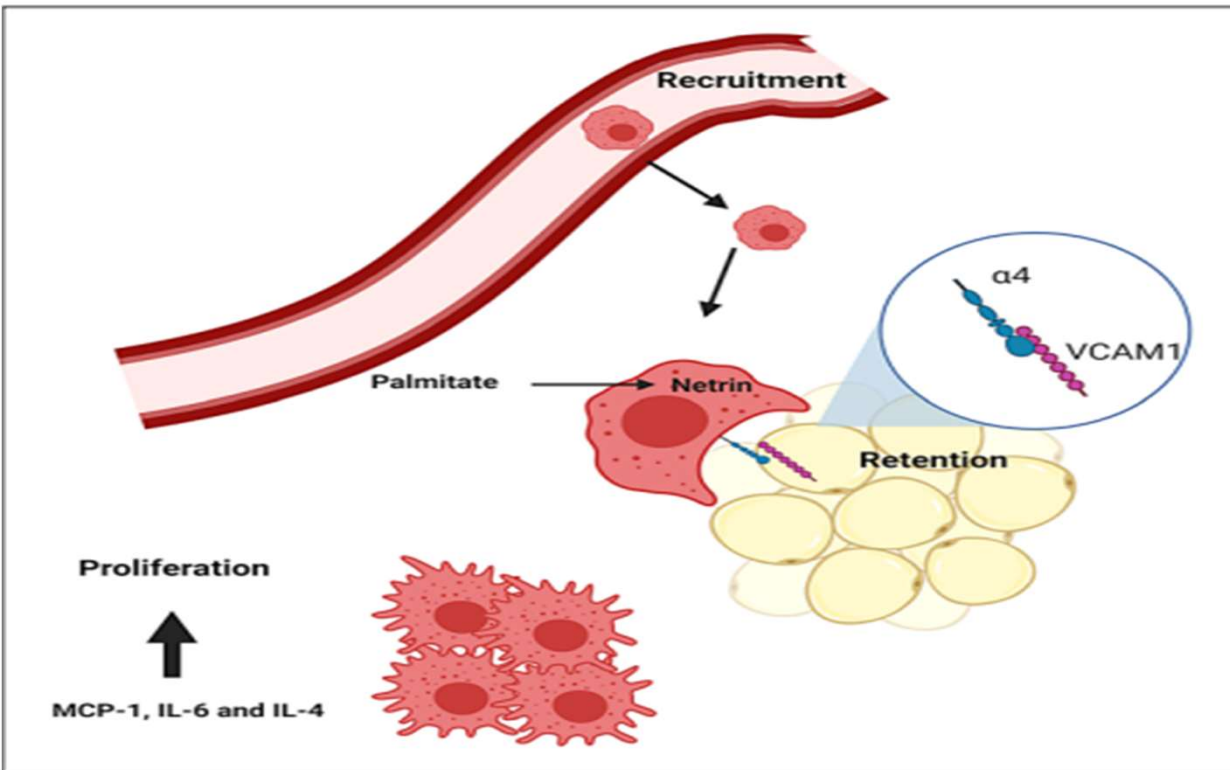
## Wpływ mikroflory na rozwój otyłości

Bakterie mikroflory warunkują prawidłową odnowę nabłonka jelitowego (bariera jelitowa), wykazują szerokie spektrum działania immuno-modulacyjnego (immunoregulacja i protekcja przed zakażeniami), warunkują przyswajanie składników pokarmowych, uczestniczą w eliminacji toksyn i karcynogenów, wpływają na motorykę układu pokarmowego.

Otyłość zmienia skład mikroflory. U osób otyłych dominują bakterie typu **Firmicutes** natomiast u osób szczupłych bakterie typu **Bacterioides**. Dieta nisko-tłuszczowa i nisko-węglowodanowa zmniejsza populację bakterii **Firmicutes** a zwiększa liczebność bakterii **Bacterioides**.

Przeniesienie mikroflory z myszy otyłych i myszy szczupłych do szczupłych myszy germ free wykazało, że mikroflora myszy otyłych powodowała zwiększone wykorzystywanie energii z pożywienia i większy przyrost wagi niż zwierzęta którym podawano bakterie od myszy szczupłych. Skład mikroflory determinuje więc zakres wykorzystywania energii z pożywienia i wpływa lub nie na rozwój otyłości. Mechanizmy tego zjawiska pozostają niewyjaśnione.

- 1) Blokowanie czynnika tkankowego indukowanego głodem (fasting-induced adipocyte factor, Fiaf) co wzmacnia aktywność lipazy lipoproteinowej (LPL) w adipocytach i nasila magazynowanie energii (rozrost adipocytów). Wzrost poziomu Fiaf u zwierząt szczupłych chroni przed otyłością; wzrasta poziom kinazy proteinowej AMPK, która wzmacnia oksydację kwasów tłuszczowych.
- 2) Profil aktywacji komórek układu odpornościowego: a) działanie LPS bakterii Gram (-). Otyłość wiąże się z nadmiarem bakterii Gram (-) wobec Gram (+). Interakcja LPS mikroflory z receptorem CD14 monocytów/makrofagów przy udziale sygnalizacji TLR4 nasila reakcje pro-zapalne (wzrasta poziom IL-6, TNF-alfa, IL-1), b) działanie krótko-łańcuchowych kwasów tłuszczowych (SFCA) (działanie przeciw-zapalne) i peptydoglikanu (PG) działanie pro-zapalne.



Makrofagi kumulują się w tkance tłuszczowej poprzez **proliferację**, **rekrutację** i **retencję**. Rekrutacja zachodzi poprzez działanie wielu czynników chemotaktycznych (MCP-1,2,3, RANTES, SAA3, kwas hialuronowy, IP-10, VEGF, etc) . Lokalna **proliferacja** zachodzi szczególnie we wczesnym etapie otyłości; jest indukowana przez IL-4, GM-CSF, MCP-1. **Retencja** (adhezja makrofagów do adipocytów) zależy od interakcji integriny alfa4/beta 1 makrofagów z ligandą VCAM-1 (vascular adhesion molecule-1) adipocytów oraz cząsteczki NERIN-1, której ekspresja na makrofagach jest indukowana przez palmitynę.



**Makrofagi.** Najliczniejsza grupa komórek rezydualnych, zasiedlająca tkankę tłuszczową we wczesnym okresie życia; wykazują fenotyp komórek alternatywnie indukowanych przez cytokiny (typ M2), CD206+/CD201+/CD11c-. W warunkach fizjologicznych (**osoby szczupłe**) działają przeciw-zapalnie, hamując odpowiedź immunologiczną, eliminują martwe adipocyty i ich fragmenty poprzez mechanizm fagocytozy i aktywację lizozomów (ekzocytoza), ograniczają różnicowanie adipocytów z komórek progenitorowych, wykazują działania naprawcze uszkodzonych tkanek. Alternatywny status ich aktywacji zależy od IL-4 produkowanej głównie przez eozynofile oraz indukcji czynników transkrypcyjnych STAT-6, PPAR gamma, IRF4, arginazy 1, Makrofagi M2, produkują cytokiny przeciw-zapalne (**IL-4, IL-10, IL-13**) antagonistę receptora IL-1 i **adiponektynę**.

**Ekspansja tkanki tłuszczowej** (hyperplazja, hipertrofia) zmienia profil makrofagów z **M2** na **M1** (pro-zapalny), indukowany głównie przez IFN-gamma, pochodzący z limfocytów Th1 (CD4+), Tc1 (CD8+) oraz komórek NK i limfocytów B (po ich aktywacji przez IL-12, il-18). Napływ prozapalnych makrofagów jest proporcjonalny do stopnia otyłości; spadek masy ciała redukuje populację tych komórek. Silne działanie pro-zapalne makrofagów **M1** zależy od produkowanych przez nie cytokin: **TNF-alfa, IL-6, IL-23**. Aktywowane makrofagi (M1) wykazują fenotyp **CD11++/ CD9+/CD63+/ TREM-2 +** (triggering receptor expressed on myeloid cells), wykazują wzmożoną aktywność fagocytarną, endocytarną, lizosomalną, a także ekspresję **CD36** (scavenger receptor dla **oxLDL**), **PPARg** oraz **ABCA1** (ATP binding cassette subfamily 1): transport komórkowego cholesterolu i fosfolipidów do apolipoprotein (fenotyp **METABOLICZNEJ** aktywacji makrofagów, w odróżnieniu od aktywacji przez czynniki infekcyjne).

- 2. Eozynofile.** W tkance tłuszczowej eozynofile działają przeciw-zapalnie (produkują IL-4, IL-10, IL-13), polaryzują makrofagi w kierunku typu M2; korzystnie wpływają na metabolizm glukozy; ich liczba negatywnie koreluje z otyłością.
- 3. Komórki tuczne.** populacja wzrasta wraz z ekspansją tkanki tłuszczowej i koreluje z poziomem glukozy, leptyną, IL-6, TGL i wskaźnikiem HOMA. Wykazują działania pro-zapalne dzięki ekspresji mediatorów zapalenia, tj. cytokin (IL-1, TNF-alfa, IL-6, gamma), chemokin, katepsyny, która indukuje proteolizę macierzy pozakomórkowej oraz angiogenezę, indukując przebudowę tkanki tłuszczowej. Otyłość wzmacnia ekspresję chymazy i tryptazy w komórkach tucznych tkanki tłuszczowej, a także serotoniny (blokowanie termogenezy). Wzmacnia różnicowanie pre-adipocytów, ich proliferację i adipogenezę, a także włóknienie.

## **Komorki supresyjne pochodzenia szpikowego (myeloid derived suppressor cells, MDSCs)**

Wzrost Infiltracji MDSCs do tkanki tłuszczowej wraz ze wzrostem jej ekspansji. Blokują reakcje pro-zapalne poprzez hamowanie funkcji limfocytów TCD8+ i nasilenie polaryzacji makrofagów w kierunku M2. Eliminacja MDSCs in vivo (zwierzęta otyłe) wykazują obniżoną wrażliwość na insulinę i zmniejszoną tolerancję glukozy; rekonstrukcja MDSCs odwraca te efekty. MDSCs infiltrują obszary przewlekłego zapalenia tkanki tłuszczowej, co hamuje rozwój stanu zapalnego towarzyszącego otyłości.

**Komórki ILCs (innate lymphoid cells);** grupa limfocytów układu odporności naturalnej, bez ekspresji klasycznych receptorów dla antygenów, typowych dla komórek T i B, wykazująca zdolność do antygenowo-nieswoistych reakcji opornościowych. W zależności od profilu syntetyzowanych cytokin komórki ILCs dzielą się na trzy grupy

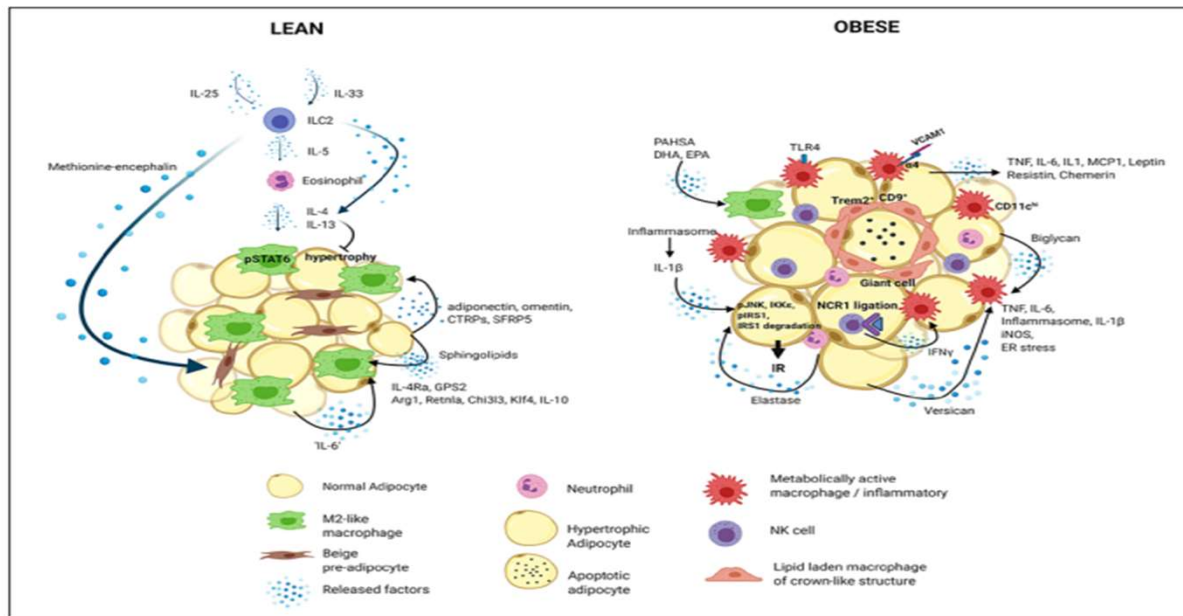
**ILC1** : konwencjonalne limfocyty NK (zależne od IL-15) oraz grasiczo-zależne NK (indukowane przez IL-7); syntetyzują IFN-gamma i TNF alfa (podobnie jak limfocyty typu Th1)

**ILC2** : produkują cytokiny typu Th2, (IL-4, IL-10); ich wzrost i różnicowanie zależą od IL-7, IL-33, IL-25

**ILC3** : produkują cytokiny IL-17 i IL-22 (jak limfocyty Th17); wzrost i różnicowanie zależą od cytokin IL-23 oraz IL-7

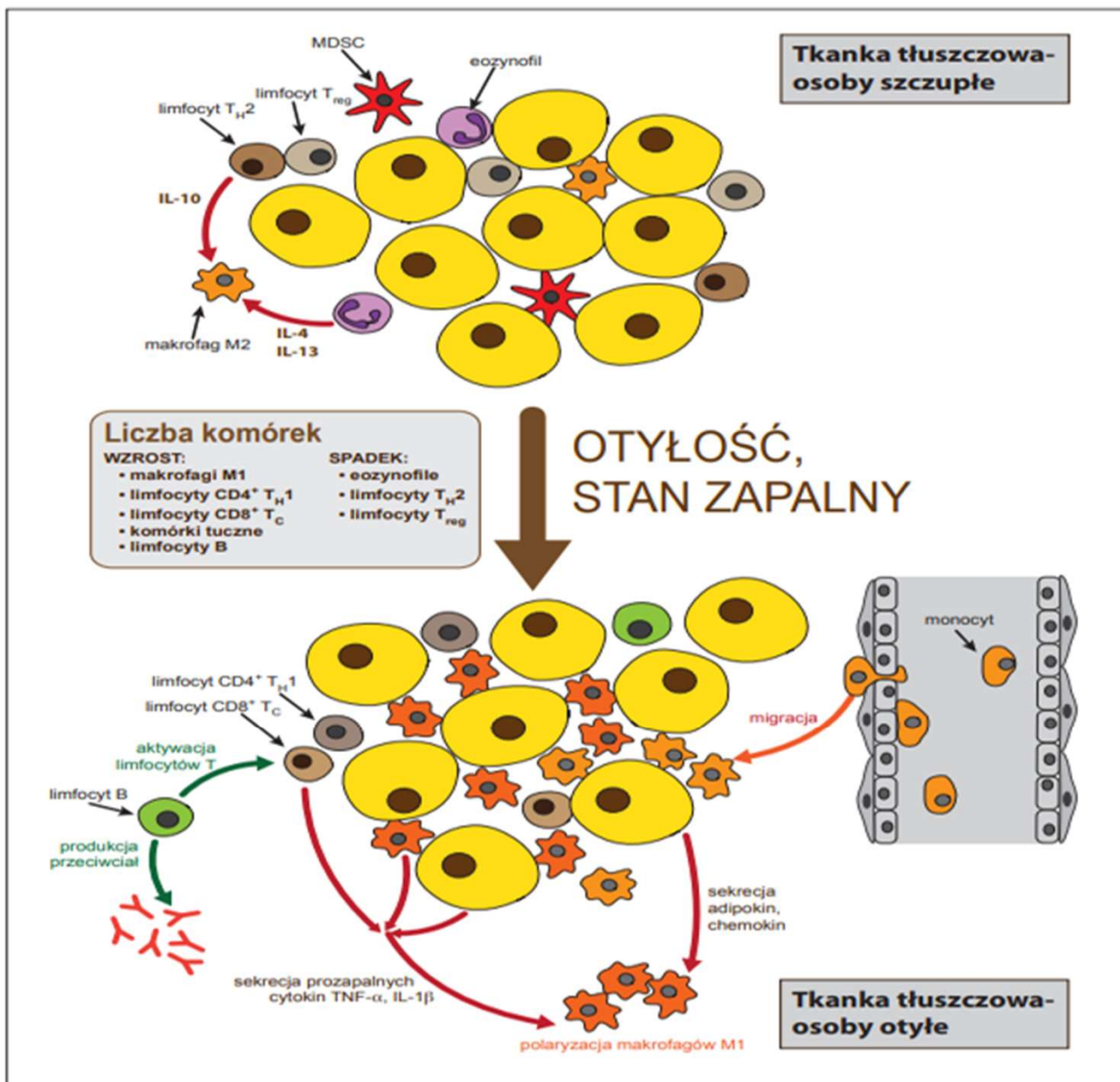
W tkance tłuszczowej nie-zapalnej występują limfocyty **ILC2**, o działaniu przeciw-zapalnym, warunkujące utrzymanie milieu limfocytów Th2, poprzez produkcję IL-5 (rekrutacja eozynofili) oraz IL-13 (polaryzacja makrofagów w kierunku M2).

Zapalenie zmienia ten profil poprzez obecność **ILC1** oraz **ILC3**, ukierunkowując odpowiedź pro-zapalną typu Th1 (IFN-gamma, TNF alfa lub Th17 (IL-17, IL-22)).



J Innate Immun 2022;14:4–30 Michailidou/Gomez-Salazar/Alexaki DOI: 10.1159/000515117

**Komórki odporności naturalnej w tkance tłuszczowej (szczupli vs otyli) . Szczupli: profil przeciw-zapalny** (rezydualne); makrofagi **M2**, eozynofile, T-reg komórki **ILC2** (produkują IL-4, IL-5, IL-13, IL-33); **ILC2** (wzrost via IL-33 i IL-25), produkują IL-5 (mobilizacja eozynofili) oraz IL-13 (indukcja M2 makrofagów), oraz metioninę-encefalinę (termogeneza, beżowienie adipocytów). Eozynofile produkują IL-4; IL-4 utrzymuje status M2 makrofagów via STAT-6 signaling, zmniejsza hipertrofię adipocytów. IL-6 wzmacnia ekspresję IL-4R, zwiększa alternatywną aktywację M2 makrofagów. Adipokiny (adiponektyna, omentyna, CTRPs, SFRP5) oraz sfingolipidy działają przeciw-zapalnie. **M2** makrofagi: czynnik transkrypcyjny **KLF** (indukcja genów *arginazy 1, Retnla, Chi3L3, GPS2*). **Otyli: profil pro-zapalny**; rekrutacja i aktywacja makrofagów (**M1**), neutrofilów, NK cells; wzmacnana przez cytokiny **pro-zapalne** (MCP-1, IL-6, TNF-α) i adipokiny (leptyna, chymeryna, rezystyna, visfatyna). Komponenty macierzy poza-komórkowej (versican, biglycan) z adipocytów i makrofagów promują M1. Makrofagi utrzymują się w tkance tłuszczowej **via** kontakt **Irf4/VACAM-1**. Makrofagi **M1** wykazują wzrost TNF-1, IL-6, i NOS, inflamasomu (NLRP3), IL-1 beta, i stresu ER; Makrofagi otaczające martwe adipocyty (within CLS) są silnie fagocytujące, CD9(+), TREM-2 + (obciążone lipidami), tworzą wielojądrowe struktury (komórki olbrzymie); makrofagi poza CLS są pro-zapalne (CD11c++); IL-1 beta (makrofagi) i elastaza (neutrofile) wzmacniają oporność na insulinę. **PAHSA** (ester kwasu palmitynowego), **DHA** (kwas dokozaheksaenowy), **EPA** (kwas eikozapentaenowy): przeciw-zapalne, wzmacniają wrażliwość na insulinę



## Wpływ komórek układu immunologicznego na rozwój zapalenia w tkance tłuszczowej

**Osoby szczupłe:** dominują komórki rezydualne : limfocyty Th2, limfocyty T-reg, eozynofile i makrofagi **M2**. Limfocyty T-reg wydzielają **IL-10** aktywują makrofagi do statusu **M2**, dalszego uwalniania tej cytokiny i innych mediatorów przeciw-zapalnych. Eozynofile uwalniają **IL-4** oraz **IL-13**, co wzmacnia działanie przeciw-zapalne i utrzymuje status **M2** makrofagów.

**Osoby otyłe :** napływ komórek układu immunologicznego z krwi obwodowej (monocyty, neutrofile, limfocyty T i B, limfocyty B, komórki NK), co sprzyja rozwojowi stanu zapalnego. Monocyty migrują do tkanki tłuszczowej i ulegają przekształceniu w makrofagi M1 działaniu prozapalnym;

## Zmiany składu komórkowego tkanki tłuszczowej (otyłość):

**Wzrost:** makrofagi M1, limfocyty Th1, Tc1, limfocyty Th17, limfocyty B, neutrofile, limfocyty NK, limfocyty ILC1, ILC3 komórki tłuszczne,

**Spadek:** eozynofile, limfocyty Th2, limfocyty T-reg, komórki ILC2, iNKT