

## STRESZCZENIE

Gruźlica jest jedną z najgroźniejszych chorób człowieka i drugą wiodącą przyczyną śmiertelności ludzi na świecie z powodu chorób zakaźnych. Czynnikiem etiologicznym gruźlicy jest wewnątrzkomórkowy patogen *Mycobacterium tuberculosis*, który rozprzestrzenił się na całej kuli ziemskiej infekując 1/3 populacji ludzkiej. Jako drobnoustrój prątek gruźlicy charakteryzuje się wysokim sukcesem ewolucyjnym, przejawiającym się dużymi zdolnościami adaptacyjnymi związanymi z wykształceniem złożonych mechanizmów patogenności determinowanych m.in. przez interakcje z elementami wrodzonej odpowiedzi odpornościowej. Konsekwencją tych oddziaływań może być nie tylko efektywne manipulowanie mechanizmami obronnymi gospodarza, ale również ich wykorzystywanie w celu ułatwienia inwazji komórek docelowych. Po przedostaniu się przez naturalne bariery mechaniczne oraz górne drogi oddechowe i dotarciu do pęcherzyków płucnych prątek gruźlicy indukuje mechanizmy obronne makroorganizmu, których wstępnym etapem jest rozpoznanie konserwatywnych struktur antygenowych tych bakterii (PAMPs) przez krążące lub błonowe receptory rozpoznające wzorce molekularne patogenów (PRRs), stanowiące istotny element wrodzonej odpowiedzi odpornościowej.

W obrębie mikrośrodowiska pęcherzyków płucnych dochodzi do interakcji prątka gruźlicy z różnymi błonowymi – receptor TLR, receptory dla składowych dopełniacza (CR), receptory mannozowe (MR), oraz krążącymi – składowe dopełniacza, lektyna wiążąca mannozę (MBL), ficoliny, białka surfaktantu płuc A i D, kolektyna 11 (CL-11), receptorami PRRs, ale także z białkami macierzy zewnątrzkomórkowej, mianowicie fibronektyną, lamininą i heparyną. Te złożone oddziaływania mają strategiczne znaczenie zarówno na płaszczyźnie rozpoznawania patogenu i aktywacji wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych, determinujących rozwój efektywnej odpowiedzi odpornościowej, jak i są kluczowe dla samego czynnika zakaźnego umożliwiając przyleganie oraz dalsze wnikanie, wewnątrzkomórkowe przeżywanie i namnażanie prątka gruźlicy w komórkach docelowych.

Przedmiotem badań prezentowanej pracy doktorskiej była ocena interakcji *M. tuberculosis* z ludzkim surowicznym amyloidem A (A-SAA1), zaliczanym do głównych, pozytywnych białek reakcji ostrej fazy. Białko to jest czynnikiem o plejotropowej aktywności, która związana jest z jego wysokim immunomodulacyjnym

potencjałem, warunkowanym prozapalnymi jak i przeciwzapalnymi właściwościami A-SAA1, wynikającymi ze zdolności pobudzania mechanizmów nasilających i hamujących procesy zapalne, takich jak syntezy wielu cytokin i chemokin przez komórki uczestniczące w odpowiedzi odpornościowej. Ponadto surowiczy amyloid A charakteryzuje się aktywnością opsonizacyjną w stosunku do wielu bakterii Gram-ujemnych nasilając proces ich fagocytozy przez makrofagi i neutrofile.

Otrzymane w trakcie realizacji niniejszej pracy doktorskiej wyniki badań po raz pierwszy wykazują zdolność *M. tuberculosis* do swoistego wiązania A-SAA1 oraz zaangażowanie w tym procesie powierzchniowych ligandów tych bakterii, mianowicie białek AtpA (Rv1308) i ABC (Rv2477c). Ponadto przeprowadzone prace doświadczalne sugerują, iż surowiczy amyloid A ostrej fazy jest istotnym, w patogenezie gruźlicy, potencjalnym krążącym receptorem rozpoznającym konserwatywne wzorce molekularne *M. tuberculosis*, a wiązanie A-SAA1 przez prątką gruźlicy może stanowić istotny mechanizm warunkujący patogenowi osiągnięcie wewnątrzkomórkowej niszy. Dodatkowo, interakcja *M. tuberculosis* z A-SAA1, prowadząca do istotnych zmiany w odpowiedzi funkcjonalnej tych bakterii na poziomie transkryptomu, może także odgrywać zasadniczą rolę na płaszczyźnie potencjału adaptacyjnego tego patogenu.

Nurt doświadczalny, w który wpisują się badania przeprowadzone w prezentowanej pracy doktorskiej, rozpatrywany jest jako kluczowy, nie tylko ze względu na jego poznawczy aspekt, prowadzący do wyjaśnienia niepoznanych dotąd interakcji prątką gruźlicy z elementami wrodzonej odpowiedzi odpornościowej gospodarza, ale także ze względu na jego fundamentalne znaczenie w opracowaniu nowoczesnych terapii przeciwprątkowych oraz opracowania skutecznych narzędzi immunoprofilaktyki gruźlicy.



Malwina Irena Kawka

## SUMMARY

Tuberculosis is still one of the most threatening human infectious disease and the second leading cause of mortality worldwide. *Mycobacterium tuberculosis*, the causative agent of tuberculosis, is a species of pathogenic intracellular bacteria which has spread intensively across the globe infecting a third of humanity. As a pathogen, *M. tuberculosis* is characterized by high evolutionary success, manifested by outstanding adaptive properties related to the development of a plethora of sophisticated mechanisms, including interactions with elements of the host innate immunity. A consequence of such interactions may not only be the effective manipulations of host innate immunity mechanisms, but also their use to ensure the invasion of the host phagocytes succeeds. After crossing the natural mechanical barriers and upper respiratory tract, and reaching the pulmonary alveoli the invading *M. tuberculosis* initiates the host innate defenses. These begin with pattern recognition of the pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) and are performed by a conserved group of the host membrane-bound and soluble molecules (PRRs), which are an important element of the innate immune response.

Within the alveolar microenvironment *M. tuberculosis* interacts with the host membrane-bound PRRs receptors, such as Toll-like receptors, complement receptors (CR) and mannose binding receptors (MBL), and soluble PRRs receptors including complement components, mannose binding lectin (MBL), ficolins, collectin 11 (CL-11) and surfactant proteins A and D, as well as extracellular matrix proteins, namely fibronectin, laminin and heparin. These complex interactions are of strategic importance both in the pathogen recognition and activation of intracellular signaling pathways, which determine the development of an effective immune response, and are also crucial for the pathogen itself, allowing for adherence, intracellular multiplication and survival of *M. tuberculosis* in target cells.

The subject of the research in the presented dissertation was the evaluation of the interaction of *M. tuberculosis* with human serum amyloid A (A-SAA1), which is a major positive acute phase protein. Acute phase A-SAA1 is a factor with pleiotropic activity related to its high immunomodulatory potential. This is determined by the pro- and anti-inflammatory properties of A-SAA1 resulting from its ability to stimulate the

mechanisms that intensify and inhibit inflammatory processes, namely cytokine and chemokine synthesis by cells participating in immune response. Furthermore, serum amyloid A functions as an innate immune opsonin for many Gram-negative bacteria, resulting in an increased number of bacterial cells being engulfed by macrophages and neutrophils.

The results obtained during realization of the doctoral dissertation revealed, for the first time, the ability of *M. tuberculosis* to specifically bind A-SAA1, and the involvement of the surface ligands of these bacteria, more specifically the AtpA (Rv1308) and ABC (Rv2477c) proteins, in this interplay. Moreover, the conducted experimental studies suggest that serum amyloid A is an important, in the pathogenesis of tuberculosis, potential soluble pattern recognition receptor that recognizes the pathogen-associated molecular patterns of *M. tuberculosis*, and that the binding of A-SAA1 may be an important mechanism for the pathogen to reach an intracellular niche. In addition, the interaction of *M. tuberculosis* with A-SAA1 significantly affects the functional response of these bacteria at the transcriptional level which may play an essential role in the adaptive potential of this pathogen.

The experimental trend, of which the conducted studies are part, is considered as crucial not only because of the explanation of unresolved aspects of interaction of pathogenic mycobacteria with elements of the innate immunity of the human host, but also because of its fundamental importance in the development of modern antituberculosis therapies as well as the development of effective tools for the immunoprophylaxis of tuberculosis.



Malwina Irena Kawka