

Justyna Agier

**Peptydy przeciwdrobnoustrojowe w regulacji  
fenotypu i aktywności mastocytów**

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych**

Zakład Immunologii Doświadczalnej

Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Promotor pracy:

Prof. dr hab. n. med. Ewa Brzezińska-Błaszczyk

– Łódź 2018 –

## STRESZCZENIE

Istotną rolę w mechanizmach immunologicznych rozwijanych w odpowiedzi na infekcję ogrywiają różne czynniki humoralne, w tym peptydy przeciwdrobnoustrojowe katelicydyny i defensyny. Peptydy te wykazują przede wszystkim bezpośrednio, ale także pośrednio, działanie przeciwdrobnoustrojowe. Ponadto, wpływają na aktywność komórek biorących udział w procesach obronnych i w ten sposób regulują rozwój odpowiedzi przeciwwakacyjnej i przebieg procesów zapalnych. Zaangażowanie komórek w obronę przeciwdrobnoustrojową uwarunkowane jest przede wszystkim możliwością szybkiej i precyzyjnej detekcji patogenów poprzez wyspecjalizowane komórkowe receptory rozpoznające wzorce PRR. Dane na temat ekspresji cząsteczek z grupy PRR przez komórki obronne, w tym przede wszystkim mastocyty - komórki odgrywające ważną rolę w mechanizmach skierowanych przeciwko patogenom - są jednak jeszcze dalece niepełne.

Rozważając dane dokumentujące rolę komórek tucznych w mechanizmach obronnych a równocześnie biorąc pod uwagę informacje o istotnym znaczeniu katelicydyn i defensyn w tych procesach intrygujące wydaje się znalezienie odpowiedzi na pytanie czy wymienione peptydy modulują aktywność przeciwdrobnoustrojową mastocytów. W szczególności w toku pracy postanowiono ustalić czy katelicydyna LL-37 i defensyna hBD-2 regulują ekspresję błonowych i wewnątrzkomórkowych cząsteczek PRR (z grupy TLR, NLR i RLR) oraz czy wskazane peptydy aktywują komórki tuczne do odpowiedzi prozapalnej i migracji.

Badania były prowadzone w warunkach *in vitro* na dojrzałych tkankowych komórkach tucznych pozyskiwanych z jamy otrzewnej szczurów i oczyszczanych w gradiencie gęstości Percollu. Konstytutywną oraz indukowaną peptydami ekspresję mRNA cząsteczek PRR oceniano techniką qRT-PCR, a ekspresję białek technikami Western blot, cytometrii przepływową oraz mikroskopii konfokalnej. Syntezę cysLT oraz chemokin CCL2 i CCL3 pod wpływem badanych peptydów oceniano metodą ELISA, uwalnianie histaminy metodą spektrofotometryczną, syntezę ROS metodą mikroskopii konfokalnej, a migrację mastocytów indukowaną peptydami badano z wykorzystaniem mikrokomory Boydena.

Wyniki przeprowadzonych badań jednoznacznie wskazały, że dojrzałe tkankowe mastocyty ekspresjonują konstytutywnie receptory PRR z grupy TLR (TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR7, TLR9), NLR (NOD1 i NOD2) oraz RLR (RIG-I). Stwierdzono, że

peptydy przeciwdrobnoustrojowe katelicyna LL-37 i defensyna hBD-2 zwiększają poziom ekspresji większości badanych receptorów, tym samym potęgując zdolność komórek tłuszczowych do rozpoznawania patogenów (poprzez cząsteczki PAMP), jak i do wiązania cząsteczek powstających w trakcie infekcji a stanowiących sygnały niebezpieczeństwa (cząsteczki DAMP). Wykazano, że oba badane peptydy stymulują komórki tłuszczowe do syntezy i wydzielania mediatorów prozapalnych, w tym ROS, a także silnie indukują migrację tych komórek. Powyższe obserwacje pozwalają na sformułowanie wniosku końcowego, że katelicyna LL-37 i defensyna hBD-2 w różny sposób wzmacniają przeciwdrobnoustrojową aktywność mastocytów i amplifikują ich udział w mechanizmach skierowanych przeciwko patogenom.