



Instytut Biologii Medycznej
Polskiej Akademii Nauk

**Wybrane czynniki odporności wrodzonej
u osób chorych na gruźlicę płuc**

Anna Sokołowska
Autoreferat rozprawy doktorskiej

Promotor
Dr hab. Maciej Cedzyński, prof. IBM PAN

Łódź 2020

Praca doktorska została wykonana pod kierunkiem Dr hab. Macieja Cedzyńskiego, prof. IBM PAN, w Pracowni Immunobiologii Zakażeń Instytutu Biologii Medycznej PAN w Łodzi

Badania, których wyniki zostały przedstawione w rozprawie finansowane były w ramach projektu „Badania mechanizmów molekularnych na styku organizm ludzki-patogen-czynniki środowiska” (InterMolMed), nr POIG.01.01.02-10-107/09, współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego (Program Operacyjny Innowacyjna Gospodarka, 2007-2013) (kierownik: Prof. dr hab. Jarosław Dziadek).

Życiorys naukowy

Wykształcenie

- 06.2005- Uzyskanie tytułu magistra, Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Praca pt. „Wiązanie ludzkiej laktoferyny i transferyny przez żywe tachyzoity *Toxoplasma gondii*”

Publikacje

1. **Sokołowska A.**, Świerzko A. S., Gajek G., Gołos A., Michalski M., Nowicki M., Szala-Poździej A., Wolska-Washer A., Brzezińska O., Wierzbowska A., Jamroziak K., Kowalski M. L., Thiel S., Matsushita M., Jensenius J.C., Cedzyński M.: *Associations of ficolins and mannose-binding lectin with acute myeloid leukaemia in adults*. Scientific Reports. 2020, 10(1):10561. doi: 10.1038/s41598-020-67516-2. (IF 3,998)
2. **Sokołowska A.**, Świerzko A. S., Szala-Poździej A., Augustynowicz-Kopeć E., Kozińska M., Niemiec T., Błachnio M., Borkowska-Tatar D., Jensenius J. C., Thiel S., Dziadek J., Cedzyński M.: *Selected factors of the innate immunity in Polish patients suffering from pulmonary tuberculosis*. Immunobiology. 2020, 225:151905. doi: 10.1016/j.imbio.2020.151905. (IF 2,788)
3. Bąk-Romaniszyn L., Świerzko A. S., **Sokołowska A.**, Durko Ł., Mierzwa G., Szala-Poździej A., Małecka-Panas E., Cedzyński M.: *Mannose-binding lectin (MBL) in adult patients with inflammatory bowel disease*. Immunobiology. 2020, 225:151859. doi: 10.1016/j.imbio.2019.10.008. (IF 2,788)
4. Świerzko A. S., Michalski M., **Sokołowska A.**, Nowicki M., Szala-Poździej A., Eppa Ł., Mitrus I., Szmigielska-Kapłon A., Sobczyk-Kruszelnicka M., Michalak K., Gołos A., Wierzbowska A., Giebel S., Jamroziak K., Kowalski M. L., Brzezińska O., Thiel S., Matsushita M., Jensenius J. C., Gajek G., Cedzyński M.: *Associations of ficolins with haematological malignancies in patients receiving high-dose chemotherapy and autologous haematopoietic stem cell transplantations (auto-HSCT)*. Front. Immunol. 2020, 10:3097. doi: 10.3389/fimmu.2019.03097. (IF 5,085)
5. Świerzko A. S., Michalski M., **Sokołowska A.**, Nowicki M., Eppa Ł., Szala-Poździej A., Mitrus I., Szmigielska-Kapłon A., Sobczyk-Kruszelnicka M., Michalak K., Gołos A., Wierzbowska A., Giebel S., Jamroziak K., Kowalski M. L., Brzezińska O., Thiel S., Jensenius J. C., Kasperkiewicz K., Cedzyński M.: *The role of complement activating collectins and associated serine proteases in patients with hematological*

malignancies, receiving high-dose chemotherapy, and autologous hematopoietic stem cell transplantations (auto-HSCT). Front Immunol. 2018, 9:2153. (IF 4,716)

6. Świerzeko A. S., Szala-Poździej A., Kilpatrick D.C., Sobociński M., Chojnacka K., **Sokołowska A.**, Michalski M., Mazerant K., Jensenius J.C., Matsushita M., Krajewski W.R., Szczapa J., Bąk-Romaniszyn L., Zeman K., Cedzyński M.: *Components of the lectin pathway of complement activation in paediatric patients of intensive care units*. Immunobiology. 2016; 221(5): 657-69. (IF 2,720)

7. Pągowska-Klimek I., Świerzeko A. S., Michalski M., Głowacka E., Szala-Poździej A., **Sokołowska A.**, Moll M., Krajewski W.R., Romak J., Cedzyński M.: *Activation of the lectin pathway of complement by cardiopulmonary bypass contributes to the development of systemic inflammatory response syndrome after paediatric cardiac surgery*. Clin Exp Immunol. 2016; 184(2):257-63. (IF 3,410)

8. Pągowska-Klimek I., Świerzeko A. S., Michalski M., Moll M., Szala-Poździej A., **Sokołowska A.**, Krajewski W.R., Cedzyński M.: *Mannose-binding lectin (MBL) insufficiency protects against the development of systemic inflammatory response after pediatric cardiac surgery*. Immunobiology. 2016; 221(2): 175-81. (IF 2,720)

9. Świerzeko A. S., Szala-Poździej A., Michalski M., Sokołowska A., Cedzyński M., Sawicki S., Śniadecki M., Wydra D., Szemraj J., Kałużynski A.: *The lectin pathway of complement activation in ovarian cancer*. Polish Academy of Sciences Annual Report, 2015, 72-74

10. **Sokołowska A.**, Szala A., Świerzeko A. St., Kozińska M., Niemiec T., Błachnio M., Augustynowicz-Kopeć E., Dziadek J., Cedzyński M.: *Mannan-binding lectin-associated serine protease-2 (MASP-2) deficiency in two patients with pulmonary tuberculosis and one healthy control. (Letter to Editor)* Cell Mol Immunol. 2015; 12(1): 119-21 (IF 5,193)

11. Świerzeko A. S., Szala A., Sawicki S., Szemraj J., Śniadecki M., **Sokołowska A.**, Kałużynski A., Wydra D., Cedzyński M.: *Mannose-Binding Lectin (MBL) and MBL-associated serine protease-2 (MASP-2) in women with malignant and benign ovarian tumours*. Cancer Immunol Immunother. 2014; 63(11): 1129-40. (IF 3,941)

12. Michalski M., Szala A., Świerzeko A. St., Łukasiewicz J., Maciejewska A., Kilpatrick D.C., Matsushita M., Domżańska-Popadiuk I., Borkowska-Kłós M., **Sokołowska A.**, Szczapa J., Ługowski C., Cedzyński M.: *H-ficolin (ficolin-3) concentrations and FCN3 gene polymorphism in neonates*. Immunobiology. 2012; 217(7): 730-7. (IF 2,814)

13. Szala A., Paradowska E., Nowakowska D., Świerzko A. S., Dzierżanowska-Fangrat K., **Sokołowska A.**, Studzińska M., Gaj Z., Suski P., Kasztelewicz B., Wilczyński J., Cedzyński M.: *Mannan-binding lectin-2 (MBL2) gene polymorphisms in prenatal and perinatal cytomegalovirus infections*. Mol Immunol. 2011; 48(15-16): 2203-6 (IF 2,897)
14. Bąk-Romaniszyn L., Szala A., **Sokołowska A.**, Mierzwa G., Czerwionka-Szaflarska M., Świerzko A. S., Zeman K., Cedzyński M.: *Mannan-binding lectin deficiency in pediatric patients with inflammatory bowel disease*. Scand J Gastroenterol. 2011; 46(10): 1275-8. (IF 2,019)

Część wyników zamieszczonych w rozprawie doktorskiej została opublikowana w 2 artykułach oryginalnych (poz. 2 i 10).

Sumaryczny IF: 45,089

Liczba cytowań: 127 (wg. Web of Science Core Collection)

Indeks H: 8 (wg. Web of Science Core Collection)

Komunikaty konferencyjne

1. 17th European Meeting on Complement in Human Disease, Madrid (Hiszpania), 2019
Świerzko A. S., Michalski M., **Sokołowska A.**, Nowicki M., Szala-Poździej A., Eppa Ł., Mitrus I., Szmigielska-Kapłon A., Sobczyk-Kruszelnicka M., Michalak K., Gołos A., Wierzbowska A., Giebel S., Jamroziak K., Kowalski M. L., Brzezińska O., Thiel S., Matsushita M., Jensenius J. C., Gajek G., Cedzyński M.: *Ficolins in patients with haematological malignancies receiving high-dose chemotherapy and autologous haematopoietic stem cell transplantations (auto-HSCT)*, Abstracts, 123 (poster)
2. Annual Next Gen Immuno Oncology Congress & Global Summit on Toxicology and Risk Assessment, Paris (Francja), 2018
Świerzko A. S., Michalski M., **Sokołowska A.**, Nowicki M., Eppa Ł., Szala-Poździej A., Mitrus I., Szmigielska-Kapłon A., Sobczyk-Kruszelnicka M., Michalak K., Gołos A., Wierzbowska A., Giebel S., Jamroziak J., Kowalski M. L., Cedzyński M.: *The MBL2 gene polymorphisms and serum mannose-binding lectin (MBL) concentration/activity in patients suffering from haematological malignancies, treated with autologous haematopoietic stem cells transplantations*, J. Forensic Toxicol. Pharmacol., 2018, (7), 56 (poster)

3. 10th International Conference on Clinical and Cellular Immunology, Madrid (Hiszpania), 2018

Świerzko A. S., Michalski M., **Sokołowska A.**, Nowicki M., Eppa Ł., Szala-Poździej A., Mitrus I., Szmigielska-Kapłon A., Sobczyk-Kruszelnicka M., Michalak K., Gołos A., Wierzbowska A., Giebel S., Jamroziak K., Kowalski M. L., Cedzyński M.: *The role of mannose-binding lectin (MBL) in patients with haematological malignancies, receiving high-dose chemotherapy and autologous haematopoietic stem cell transplantations (auto-HSCT)*. J. Clin. Cell. Immunol., 2018, (9), 61 (poster)

4. 4th Workshop on Microbiology in Health Care and Environmental Protection MIKROBIOT, Łódź, 2017

Eppa Ł., Nowicki M., Mitrus I., **Sokołowska A.**, Sobczyk-Kruszelnicka M., Szmigielska-Kapłon A., Michalak K., Gołos A., Wierzbowska A., Giebel S., Jamroziak K., Świerzko A. St., Kasperkiewicz K., Cedzyński M.: *Mannose-binding lectin (MBL) in patients haematological malignancies, receiving autologous hematopoietic stem cell transplantations (auto-HSCT)* (poster I-P 30); Postępy Mikrobiologii 2017, 56 (supl. 1) (poster)

5. 4th Workshop on Microbiology in Health Care and Environmental Protection MIKROBIOT, Łódź, 2017

Sokołowska A., Gołos A., Wolska A., Nowicki M., Jamroziak K., Wierzbowska A., Szala-Poździej A., Świerzko A. St., Cedzyński M.: *Ficolin-1 in patients suffering from acute myeloid leukemia* (poster I-P 29); Postępy Mikrobiologii 2017, 56 (supl. 1): 36 (poster)

6. 53rd ERA-EDTA Congress, Wiedeń (Austria), 2016

Niemir Z., Woźniczka K., Świerzko A. St., Smykał-Jankowiak K., Polcyn-Adamczak M., **Sokołowska A.**, Szala A., Cedzyński M.: *The immunological activity of lupus nephritis associates with the concurrent deficiency of mannose-binding lectin and C1q*. Nephrology Dialysis Transplantation, 2016, suppl.1; 360 (abstract MP054) (poster)

7. 8th International Conference on Complement Therapeutics, Chania (Grecja), 2015

Pągowska-Klimek I., Świerzko A. St., Michalski M., Moll M., Szala-Poździej A., **Sokołowska A.**, Krajewski W., Cedzyński M.: *Complement lectin pathway activation by cardiopulmonary bypass contributes to the development of systemic inflammatory*

response syndrome after pediatric cardiac surgery. Aegean Conferences Series vol. 93, Abstract 60, 85 (poster)

8. International Conference on Innate Immunity, Barcelona (Hiszpania), 2015
Pągowska-Klimek I., Świerzeko A. St., Michalski M., Moll M., Szala A., **Sokołowska A.**, Cedzyński M.: *Mannose-binding lectin (MBL) and postoperative complications rate in pediatric cardiac surgery*. J. Clin. Cell. Immunol., (6:3), 34 (poster)

9. 51st Congress of the European-Renal-Association(ERA)/European-Dialysis-and-Transplant-Association (EDTA), Amsterdam (Holandia), 2014
Niemir Z., Woźniczka K., Świerzeko A. St., Cedzyński M., Połcyn-Adamczak M., **Sokołowska A.**, Szala A.: *The relationship between the mannan-binding protein genotypes and clinical manifestation of lupus nephritis*. Nephrology Dialysis Transplantation, (29, suppl. 3), 440 (poster)

10. The 3rd Workshop on Microbiology in Health and Environmental Protection, Łódź, 2013

Michalski M., Świerzeko A. St., Łukasiewicz J., Man-Kupisińska A., **Sokołowska A.**, Cedzyński M.: *An interaction of H-ficolin with lipopolysaccharide contributes to aggregation, phagocytosis and killing of Hafnia alvei 1200 bacterial cells.*, Postępy Mikrobiologii, (52, supl.1); 88 (III-P11) (poster)

11. The 3rd Workshop on Microbiology in Health and Environmental Protection, Łódź, 2013

Sokołowska A., Świerzeko A. St., Szala A., Michalski M., Augustynowicz-Kopec E., Niemiec T., Blachnio M., Dziadek J., Cedzyński M.: *Selected innate immunity factors in pulmonary tuberculosis patients*, Postępy Mikrobiologii, (52, supl. 1); 21 (I-O2) (prezentacja ustna)

12. Ogólnopolski Zjazd Młodych Biotechnologów, Katowice, 2013

Cedzyński M., Szala A., **Sokołowska A.**, Michalski M., Świerzeko A. St.: *Lektyna wiążąca mannan, ficoliny i związana z nimi proteaza serynowa MASP-2 u noworodków.*, Chemik Light, (3), 4-5 (wykład plenarny)

13. 15th International Congress of Immunology, Mediolan (Włochy), 2013

Michalski M., Świerzeko A. St., Łukasiewicz J., Man-Kupisińska A., **Sokołowska A.**, Cedzyński M., *An interaction of H-ficolin with lipopolysaccharide contributes to aggregation, phagocytosis and killing of Hafnia alvei 1200 bacterial cells.*, Abstracts, PI.12.17 (poster)

14. 14th European Meeting on Complement in Human Disease, Jena (Niemcy), 2013

Cedzyński M., Chojnacka K., Sobociński M., Świerzko A. St., Szala A., **Sokołowska A.**, Michalski M., Łukasiewicz J., Maciejewska A., Szczapa J., Krajewski W., Matsushita M., Kilpatrick D.C.: *Complement activating lectins in neonatal sepsis.*, Mol. Immunol., 56, 302, (P CII 7) (poster)

15. 14th European Meeting on Complement in Human Disease, Jena (Niemcy), 2013

Sokołowska A., Świerzko A. St., Szala A., Michalski M., Augustynowicz-Kopeć E., Niemiec T., Błachnio M., Dziadek J., Cedzyński M.: *Collectins and ficolins in Mycobacterium tuberculosis infections in Polish patients*, Mol. Immunol., (56), 303 (P CII 10) (poster)

16. 14th European Meeting on Complement in Human Disease, Jena (Niemcy), 2013

Michalski M., Świerzko A. St., Łukasiewicz J., Man-Kupisińska A., **Sokołowska A.**, Cedzyński M.: *An interaction of H-ficolin with lipopolysaccharide contributes to aggregation, phagocytosis and killing of Hafnia alvei 1200 bacterial cells.*, Mol. Immunol., 56, 302-303 (P CII 9) (poster)

17. 10th International Conference on Innate Immunity, Kos (Grecja), 2013

Sokołowska A., Świerzko A. St., Szala A., Michalski M., Augustynowicz-Kopeć E., Niemiec T., Błachnio M., Dziadek J., Cedzyński M.: *Mannan-binding lectin and H-ficolin (ficolin-3) in pulmonary tuberculosis*, Aegean Conference Series., vol. 74, Abstract 84, 122 (poster)

18. 10th International Conference on Innate Immunity, Kos (Grecja), 2013

Szala A., Świerzko A. St., **Sokołowska A.**, Michalski M., Augustynowicz-Kopeć E., Niemiec T., Błachnio M., Dziadek J., Cedzyński M.: *Surfactant proteins-SP-A and SP-D in tuberculosis patients*, Aegean Conference Series, vol. 95, Abstract 60, 136 (poster)

19. 10th International Conference on Innate Immunity, Kos (Grecja), 2013

Michalski M., Świerzko A. St., Łukasiewicz J., Man-Kupisińska A., **Sokołowska A.**, Cedzyński M.: *An interaction of H-ficolin with lipopolysaccharide contributes to aggregation, phagocytosis and killing of Hafnia alvei 1200 bacterial cells.*, Aegean Conference Series, vo. 74, Abstarct 60, 94 (poster)

20. 50th European Renal Association-European Dialysis and Transplant Association Congress, Sztambuł (Turcja), 2013
Niemir Z., Świerzek A. St., Polcyn-Adamczak M., Cedzyński M., **Sokołowska A.**, Szala A.: *Is there any relationship between serological responsiveness to the Epstein-Barr virus antigens and serum levels of mannan binding lectin in patients with lupus nephritis and primary glomerulonephritides?*, *Nephrol. Dial. Transplant.*, (28, suppl. 1), 410, (MP357) (poster)
21. Overcoming Challenges in IBD Management. Falk Symposium, 187, Barcelona (Hiszpania), 2013
Szala A., Bąk-Romaniszyn L., **Sokołowska A.**, Świerzek A. St., Durko Ł., Małecka-Panas E., Cedzyński M.: *Mannan-binding lectin (MBL) in inflammatory bowel disease*. Falk Symposium, Abstracts, 187, 42 (poster)
22. 20th United Gastroenterology Week, Amsterdam (Holandia), 2012
Bąk-Romaniszyn L., **Sokołowska A.**, Świerzek A. St., Durko Ł., Szala A., Małecka-Panas E., Cedzyński M.: *Mannan-binding lectin (MBL) in adult patients with inflammatory bowel disease.*, Abstracts, P1370 (poster)
23. XXXII Zjazd Polskiego Towarzystwa Chorób Płuc, Wisła, 2012
Sokołowska A., Świerzek A. St., Szala A., Michalski M., Augustynowicz-Kopeć E., Niemiec T., Błachnio M., Dziadek J., Cedzyński M.: *Kolektyna surfaktantu płucnego SP-D u osób chorych na gruźlicę.* (poster)
24. XXXII Zjazd Polskiego Towarzystwa Chorób Płuc, Wisła, 2012
Szala A., **Sokołowska A.**, Świerzek A. St., Augustynowicz-Kopeć E., Niemiec T., Błachnio M., Dziadek J., Cedzyński M.: *Surowicze stężenia lektyny wiążącej mannan (MBL) i polimorfizmy genu MBL2 u osób chorych na gruźlicę.* (poster)
25. XXXII Zjazd Polskiego Towarzystwa Chorób Płuc, Wisła, 2012
Michalski M., Dziadek J., Maciejewska A., Błachnio M., Niemiec T., Augustynowicz-Kopeć E., Świerzek A. St., **Sokołowska A.**, Łukasiewicz J., Szala A., Cedzyński M.: *Badania surowiczych stężeń fikoliny H oraz mutacji genu FCN3 u osób chorych na gruźlicę.* (poster)
26. 19th United European Gastroenterology Week, Stockholm, (Szwecja), 2011
Bąk-Romaniszyn L., Szala A., **Sokołowska A.** Mierzwa G., Czerwionka-Szaflarska M., Świerzek A. St., Zeman K., Cedzyński M.: *Mannan-binding lectin (MBL) in inflammatory bowel disease – preliminary report.* *Gut*, (60, suppl. 3), A412, P1481 (poster)

27. 5th International Conference on Complement Therapeutics, Rodos, (Grecja), 2011

Sokołowska A., Świerzek A. St., Szala A., Augustynowicz-Kopec E., Niemiec T., Dziadek J., Cedzyński M.: *High serum levels of mannan-binding lectin in pulmonary tuberculosis patients*, Aegean Conference Series, vol. 59, abstract 50. (poster)

28. INTERLEC 24 - 24th International Lectin Meeting, Brisbane, (Australia), 2011

Sokołowska A., Świerzek A. St., Szala A., Augustynowicz-Kopec E., Niemiec T., Dziadek J., Cedzyński M.: *High serum levels of mannan-binding lectin (MBL) and MBL-MASP-2 complex activities in pulmonary tuberculosis patients*, Abstract Book, 2 (wykład w sekcji)

Część wyników zamieszczonych w rozprawie doktorskiej została opublikowana w postaci 9 komunikatów konferencyjnych (poz. 11, 15, 17, 18, 23, 24, 25, 27, 28)

Nagrody

- Nagroda Dyrektora Instytutu Biologii Medycznej PAN za działalność naukową – 2015-2016

Udział w projektach badawczych

- Badanie znaczenia czynników specyficznych dla aktywacji dopełniacza na drodze lektynowej u osób chorych na nowotwory hematologiczne poddawanych autologicznym przeszczepom macierzystych komórek krwiotwórczych (2014-2018) - grant NCN (Opus), nr 2013/11/B/NZ6/01739 – wykonawca
- Badania znaczenia fikolin w odporności przeciwwakaźnej osób chorych na ostrą białaczkę szpikową, poddawanych chemioterapii (2013-2018), grant NCN (Preludium), nr 2012/07/N/NZ6/02964 – kierownik
- Badanie mechanizmów molekularnych na styku organizm ludzki-patogen-czynniki środowiska (InterMolMed), w ramach POIG (2010-2014), nr 01.01.02-10-107/09 – wykonawca
- Badania wybranych czynników odporności wrodzonej u pacjentów oddziałów intensywnej terapii (2010-2014), grant MNiSW, nr N N402 353438 – wykonawca
- Badanie znaczenia czynników aktywacji dopełniacza na drodze lektynowej dla rozwoju powikłań po operacji wad wrodzonych serca u dzieci z użyciem krążenia

pozaustrojowego (2011-2016), grant NCN (Opus) nr 2011/03/B/NZ6/00052 - wykonawca

- Zakażenia prenatalne i perinatalne wirusem cytomegalii – projekt finansowany ze środków Mechanizmu Finansowego Europejskiego Obszaru Gospodarczego oraz Norweskiego Mechanizmu Finansowego (2008-2011), nr PL0270 - wykonawca
- Miejscowa synteza, mechanizmy jej regulacji oraz znaczenie wybranych lektyn i proteazy serynowej MASP-2 w nowotworach jajnika. - grant MNiSW nr N N401 021035 (2008-2012) – wykonawca
- Dotacja na finansowanie działalności polegającej na prowadzeniu badań naukowych lub prac rozwojowych oraz zadań z nimi związanych, służących rozwojowi młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich na realizację projektu pt.: „Oddziaływanie rekombinowanych i surowicznych aktywatorów lektynowej drogi dopełniacza z antygenami *Borrelia*” – IBM PAN, 2017 – beneficjentka

Wybrane czynniki odporności wrodzonej u osób chorych na gruźlicę płuc

Wprowadzenie

Mimo znaczącego postępu w zapobieganiu i leczeniu gruźlicy, choroba ta ciągle pozostaje globalnym problemem zdrowotnym, a corocznie z jej powodu notuje się ponad milion zgonów. Do czynników przyczyniających się do wciąż ograniczonej skuteczności walki z gruźlicą należą, między innymi, niepełny efekt ochronny stosowanej powszechnie szczepionki BCG (*Bacillus Calmette-Guérin*) oraz często przedwczesne przerywanie długotrwałej farmakoterapii przeciwprątkowej. W wielu krajach, w wyniku niewłaściwego nadzoru nad leczeniem, wzrasta odsetek zakażeń prątkami opornymi na liczne antybiotyki. Migracje ludności prowadzą do rozprzestrzeniania się szczepów wielolekoopornych. Diagnostyka gruźlicy opiera się głównie na badaniach mikrobiologicznych oraz radiologicznych. Brakuje swoistych markerów zakażenia, które pozwoliłyby skutecznie rozpoznać chorobę w jej wczesnym etapie i ograniczyć jej rozprzestrzenianie. Nieleczony, prątkujący chory może w ciągu roku zarazić nawet kilkanaście osób, natomiast po włączeniu antybiotykoterapii, niebezpieczeństwo transmisji zakażenia mija już po kilku tygodniach. Reakcja ochronna organizmu na wnikające patogeny jest natychmiastowa, gdyż już w pierwszym etapie infekcji zostają uruchomione mechanizmy odporności wrodzonej. Jej

czynnikami są m.in. receptory PRR (ang. pattern recognition receptors) rozpoznające wzorce strukturalne drobnoustrojów PAMP (ang. pathogen-associated molecular patterns). Występujące w organizmie zarówno w formie związanej z komórkami odpornościowymi, jak i w formie rozpuszczalnej. Przebieg początkowej fazy zakażenia *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) jest niezwykle istotny. Przy sprawnie działających mechanizmach odporności, w 90-95% przypadków nie dochodzi do rozwoju aktywnej postaci gruźlicy. Oddziaływanie komórek *M. tuberculosis* z różnorodnymi receptorami i uruchomienie procesu fagocytozy pełnią kluczową rolę w przebiegu zakażenia. Efekt oddziaływań patogen-gospodarz często zależy od rodzaju receptora biorącego udział w rozpoznaniu antygenów bakteryjnych.

Celem pracy była ocena znaczenia wybranych czynników odporności wrodzonej w podatności na gruźlicę płuc, której czynnikiem etiologicznym jest *Mycobacterium tuberculosis*.

Przedmiotem badań były:

- czynniki występujące w postaci rozpuszczalnej w krwi: lektyna wiążąca mannozę (MBL), fikoliny (fikolina-1, -2, -3) oraz występujące z nimi w kompleksach proteazy serynowe MASP-1 i MASP-2
- czynniki występujące miejscowo w układzie oddechowym (kolektyny surfaktantu płucnego A i D (SP-A, SP-D))
- receptory Toll-podobne (TLR-1, -2, -4, -6) oraz uczestniczące w przekazywaniu sygnału po ich aktywacji białko TIRAP (Mal).

Należy wspomnieć, że fikolina-3 występuje także w układzie oddechowym, natomiast białka SP-A i SP-D – w krwi, co sprawia, że czynniki te mogą uczestniczyć zarówno w odpowiedzi ogólnoustrojowej, jak i lokalnej. Ponadto, fikolina-1, syntezowana przez leukocyty, wykrywana jest na powierzchni tych komórek. MBL i fikoliny, dzięki tworzeniu kompleksów z MASP mogą inicjować aktywację dopełniacza, podczas gdy kolektyny surfaktantu płucnego pozbawione są tej właściwości.

Przedstawiony cel pracy realizowano poprzez:

- oznaczanie częstości występowania wybranych mutacji i wariantów polimorficznych genów kodujących wspomniane czynniki u osób chorych na gruźlicę płuc (kryteriami kwalifikacji były wyniki badań bakteriologicznych i radiologicznych) oraz w grupie kontrolnej, w skład której wchodziłi zdrowi ochotnicy (bez historii ciężkich i nawracających zakażeń, chorób nowotworowych, autoimmunizacyjnych);

- badanie stężeń kolektyn (MBL, SP-D), fikolin (fikolina -1, -2, -3), a także aktywności kompleksów MBL-MASP-2 oraz MBL-MASP-1 w próbach surowicy pobranych od przedstawicieli wspomnianych grup;
- badanie zmian stężeń wybranych białek w surowicy chorych, w przebiegu leczenia przeciwgruźliczego.

Metodyka badań

Grupę badaną (TB) stanowiły osoby chorujące na gruźlicę płuc, która została potwierdzona bakteriologicznie i radiologicznie. Do grupy tej zakwalifikowano 279 mężczyzn, w wieku od 20 do 93 lat oraz 155 kobiet, w wieku od 18 do 94 lat (łącznie 434 osoby). Kryterium wykluczającym pacjentów z grupy badanej były współistniejące zakażenia HIV oraz wirusami zapalenia wątroby. Pacjentów rekrutowano dzięki współpracy ze szpitalami w Warszawie, Jaroszewcu, Otwocku, Rzeszowie oraz w Bydgoszczy. Od niektórych pacjentów, próby krwi wykorzystywane do otrzymania surowicy zostały pobrane dwukrotnie (przed i podczas zastosowaniu leczenia przeciwgruźliczego), w celu oceny zmian stężeń badanych czynników odporności wrodzonej w przebiegu terapii.

Grupę kontrolną (C) stanowiły osoby zdrowe, niezgłaszające w wywiadzie ciężkich i/lub nawracających zakażeń, chorób nowotworowych i autoimmunizacyjnych. Do grupy tej włączono 150 mężczyzn w wieku od 23 do 64 lat oraz 100 kobiet w wieku od 18 do 75 lat (łącznie 250 osób). Na wykonanie badań będących przedmiotem pracy uzyskano zgodę właściwych komisji bioetycznych wraz z pisemną świadomą zgodą pacjentów i zdrowych ochotników.

Stężenia lektyny wiążącej mannozę i fikoliny-3 w surowicy oznaczane były funkcjonalnymi testami ELISA, pozwalającymi na wykrycie aktywnych cząsteczek białka. Aktywność kompleksów MBL-MASP-2 – oznaczano także za pomocą funkcjonalnego testu ELISA jako zdolność trawienia C4 na drodze niezależnej od kompleksów C1qrs. Aktywność kompleksów MBL-MASP-1 oznaczano za pomocą testu fluorescencji, wykorzystując zdolność trawienia syntetycznego substratu dla MASP-1 (VPR-AMC)

Stężenie SP-D określone było testem komercyjnym typu „sandwich”. Stężenia fikoliny-1 i fikoliny-2 oznaczane były za pomocą testu „sandwich” TRIFMA.

Badanie wybranych wariantów polimorficznych/mutacji genów: *MBL2*, *MASP2*, *SFTPA1*, *SFTPA2*, *SFTPD*, *FCN1*, *FCN2*, *FCN3*, genów kodujących receptory TLR (*TLR1*, *TLR2*, *TLR4* i *TLR6*) oraz białka adaptorowego TIRAP (*TIRAP*) prowadzono przy użyciu metody

łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR), w większości przypadków prowadzono również analizę długości fragmentów restrykcyjnych (RFLP) z użyciem odpowiednich enzymów.

Badane polimorfizmy/mutacje:

- gen *MBL2* (lektyna wiążąca mannozę): rs11003125; rs7096206; rs5030737; rs1800450; rs1800451
- gen *MASP2* (proteaza MASP-2 i białko MAp19): rs72550870
- gen *SFTPA1* (kolektyna surfaktantu płucnego A1): rs1059047; rs17883551; rs4253527
- gen *SFTPA2* (kolektyna surfaktantu płucnego A2): rs1059046; rs17886395; rs17881479
- gen *SFTPD* (kolektyna surfaktantu płucnego D): rs721917; rs17885900; rs3088308
- gen *FCN1* (fikolina-1): rs10120023; rs10117466
- gen *FCN2* (fikolina-2): rs78654553; rs17514136
- gen *FCN3* (fikolina-3): rs28357092
- gen *TLR1* (receptor TLR-1): rs5743618
- gen *TLR2* (receptor TLR-2): rs5743708
- gen *TLR4* (receptor TLR-4): rs4986790
- gen *TLR6* (receptor TLR-6): rs5743810
- gen *TIRAP* (białko adaptorowe TIRAP): rs8177374

Wyniki i dyskusja

Mediany stężeń lektyny wiążącej mannozę (MBL), aktywności jej kompleksów z proteazami serynowymi MASP-1 i MASP-2, stężeń drugiej z badanych kolektyn - białka surfaktantu płucnego D (SP-D) oraz fikoliny-1 były znacząco wyższe u pacjentów z rozpoznaną gruźlicą płuc, w porównaniu z grupą osób zdrowych, niezależnie od płci i wieku. W grupie osób chorych mediany wspomnianych czynników były znacząco wyższe u mężczyzn chorujących na gruźlicę niż u kobiet. W grupie kontrolnej zaobserwowano odwrotne zależności, z wyjątkiem stężeń fikoliny-1, gdyż w tym przypadku nie obserwowano różnic stężeń pomiędzy kobietami i mężczyznami. Na aktywność kompleksów MBL-MASP-2 wpływał przede wszystkim genotyp *MBL2*, nie zaś *MASP2*. Wyjątek stanowiły osoby, u których stwierdzono rzadki, pierwotny niedobór tej proteazy. Wysokie stężenia MBL, SP-D i fikoliny-1 w surowicy osób chorych na gruźlicę płuc mogą wskazywać na ich udział w patogenezie choroby bądź obserwowana różnica między grupami może oznaczać, że wysokie stężenie tych białek u chorych są raczej skutkiem aktywnego zakażenia niż jednym z czynników sprzyjających jego rozwojowi. Z drugiej strony, naturalnie wysoki, osobniczy poziom wymienionych czynników odporności w surowicy (SP-D także w surfaktancie

płucnym) może sprzyjać rozwojowi aktywnej postaci gruźlicy, np. poprzez ułatwienie fagocytozy prątków w wyniku ich opsonizacji/aglutynacji.

Zaobserwowano znaczący wzrost stężenia lektyny wiążącej mannozę w surowicy pacjentów po podjęciu leczenia. Nie wykazano podobnego zjawiska w przypadku innych badanych białek. Wzrost stężenia MBL w surowicy osób chorych, pomimo rozpoczętej antybiotykoterapii, może świadczyć o wpływie podjętego leczenia na poziom ekspresji tej lektyny. Celowym jest prowadzenie dalszych badań w tym kierunku.

Badając częstość występowania wybranych polimorfizmów genów kodujących kolektyny MBL (*MBL2*) oraz SP-D (*SFTPD*) nie zaobserwowano różnic pomiędzy badanymi grupami. Wysokie stężenia fikoliny-1 w surowicy osób chorych na gruźlicę płuc, przy znacząco częstszym występowaniu genotypów mających związek z niższym stężeniem tego białka w surowicy (genotypy G/G i C/C w pozycjach, odpowiednio -542 i -144 genu *FCN1*, rs10120023 i rs10117466) występowały znacząco częściej u osób chorych niż u osób zakwalifikowanych do grupy kontrolnej), również sugerują, że znaczenie mogą mieć inne, niebadane polimorfizmy, czynniki pozagenetyczne (np. hormony) regulujące poziom ekspresji genu *FCN1* lub wzrost jej stężenia może być wynikiem odpowiedzi na zakażenie *Mtb*.

Mediana stężeń fikoliny-2 w surowicy osób chorych, w porównaniu z osobami zakwalifikowanymi do grupy kontrolnej była znacząco niższa, niezależnie od płci i wieku. Wyższe stężenia fikoliny-2 w surowicy osób zdrowych, mogą mieć związek z wyższą częstością występowania w tej grupie genotypu A/G w pozycji -4 genu *FCN2* (polimorfizm rsrs17514136). Uzyskane wyniki mogą świadczyć też o wpływie tego polimorfizmu na ryzyko rozwoju aktywnej gruźlicy (potencjalny efekt ochronny wariantu A/G i wysokiego stężenia fikoliny-2). Znacząco niższe stężenia fikoliny-2 w grupie pacjentów, mogą być także związane z toczącym się procesem zapalnym (konsumpcja aktywnego białka), wpływie innych polimorfizmów *FCN2* bądź regulacji pozagenetycznej.

Stężenia fikoliny-3 (mediany) nie różniły się istotnie statystycznie pomiędzy przedstawicielami grupy badanej TB i grupy kontrolnej C. Zaobserwowano jednak, że przeciętny poziom badanego białka u zdrowych mężczyzn był istotnie wyższy niż u chorych. Na podstawie analizy danych uzyskanych dla osób młodszych oraz mężczyzn nie można jednak jednoznacznie wykluczyć udziału fikoliny-3 w odpowiedzi na infekcję.

Diagnostyka gruźlicy jest nadal bardzo złożona, gdyż nie zawsze istnieje możliwość potwierdzenia choroby poprzez badania mikrobiologiczne (hodowla czynnika zakaźnego). Brak biomarkerów pozwalających na szybkie odróżnienie zakażenia *Mtb* od innego rodzaju

infekcji powoduje, że szybkie rozpoznanie jest utrudnione. Poddając otrzymane dla poszczególnych badanych czynników odporności wrodzonej wyniki analizie krzywej ROC zaobserwowano, że fikolina-1 oraz fikolina-2 charakteryzują się stosunkowo silnym potencjałem różnicującym osoby chore na gruźlicę od osób zdrowych, co może czynić je pomocniczymi markerami diagnostycznymi. Wysokie stężenia fikoliny-1 oraz niskie fikoliny-2 mogłyby sugerować celowość podjęcia dalszych kroków diagnostycznych. Celowym jest kontynuowanie prac, uwzględniających np. pobieranie prób w różnych fazach choroby oraz potwierdzenie uzyskanych wyników w niezależnych badaniach. W przypadku pozostałych badanych białek, wartości AUC (area under curve, pole powierzchni pod krzywą) nie wskazywały na ich potencjalną użyteczność jako markerów pomocniczych w diagnostyce gruźlicy płuc.

Analiza wyników badań wybranych SNP genów kodujących białka surfaktantu płucnego SP-A1 oraz SP-A2 przedstawionych w niniejszej pracy, wykazała istotne różnice pomiędzy grupami TB i C, jedynie w przypadku polimorfizmów +26 C>A (rs1059046) oraz +667 C>A (rs17881479) genu *SFTPA2*. Genotyp A/A w obu pozycjach występował znacząco rzadziej w grupie pacjentów, w porównaniu z grupą odniesienia. W przypadku pozostałych polimorfizmów genu *SFTPA1* oraz genu *SFTPA2* nie wykazano różnic istotnych statystycznie pomiędzy porównywanymi grupami.

Częstości występowania badanych wariantów polimorficznych/mutacji genów kodujących receptory TLR (*TLR1*, *TLR2*, *TLR4* i *TLR6*) oraz białka adaptorowego TIRAP (*TIRAP*) nie różniły się znacząco pomiędzy grupą pacjentów i grupą osób zdrowych, co może wskazywać na brak wpływu tych czynników na podatność na zakażenie i rozwój gruźlicy.

Różnorodność danych dostępnych w literaturze i niekiedy sprzeczność wynikających z nich wniosków, mogą być związane z różnicami etnicznymi, liczebnością zakwalifikowanych do badań grup, jak również przyjętymi schematami badań. W przedstawionej pracy badane grupy były stosunkowo liczne i homogenne etnicznie, uzyskane wyniki należy więc traktować jako reprezentatywne dla populacji polskiej.

Wnioski

1. Wysokie stężenia MBL, SP-D i fikoliny-1 w surowicy osób chorych na gruźlicę płuc mogą wskazywać na udział tych czynników w patogenezie choroby.

2. Wysokie stężenia MBL i SP-D w surowicy osób chorych na gruźlicę płuc, mimo braku różnic częstości występowania badanych wariantów polimorficznych, mogą sugerować wpływ innych, niebadanych polimorfizmów genów *MBL2* i *SFTPD*, wzrost ich ekspresji pod wpływem czynników pozagenetycznych (np. hormonów) lub w odpowiedzi na infekcję (jako białek fazy ostrej).
3. Wysoki poziom fikoliny-1 w surowicy i jednocześnie znacząco częstsze występowanie wariantów polimorficznych mających wpływ na niższą ekspresję tej fikoliny w grupie osób chorych na gruźlicę płuc wskazuje na wpływ innych niebadanych polimorfizmów lub czynników pozagenetycznych, np. hormonów.
4. Wzrost stężenia MBL w surowicy osób chorych, pomimo rozpoczętej antybiotykoterapii, może świadczyć o wpływie podjętego leczenia na poziom ekspresji tej lektyny. Celowym jest prowadzenie dalszych badań w tym kierunku.
5. Statystycznie istotne różnice aktywności kompleksów MBL z proteazami serynowymi MASP pomiędzy grupami TB i C mogą świadczyć o udziale aktywacji dopełniacza na drodze lektynowej w odpowiedzi na zakażenie *Mtb*.
6. Różnice częstości występowania genotypu A/A polimorfizmów w pozycjach +26 (C>A) i +667 (C>A) genu *SFTPA2* pomiędzy badanymi grupami potwierdzają wpływ białka SP-A2 na rozwój zakażenia *Mtb*.
7. Wyższe stężenia fikoliny-2 w surowicy osób zdrowych, mogą mieć związek z wyższą częstością występowania w tej grupie genotypu A/G w pozycji -4 genu *FCN2*.
8. Znacząco niższe stężenia fikoliny-2 w grupie pacjentów, mogą być także związane z toczącym się procesem zapalnym (konsumpcja aktywnego białka), wpływie innych polimorfizmów *FCN2* bądź regulacji pozagenetycznej.
9. Wysokie wartości AUC otrzymane dla fikoliny-1 i fikoliny-2 sugerują ich potencjalną użyteczność jako biomarkerów pomocniczych w diagnostyce gruźlicy.

10. Brak różnic częstości występowania mutacji genu *FCN3* oraz stężeń fikoliny-3 w surowicy pomiędzy grupami pacjentów i osób zdrowych sugeruje, że białko to nie ma znaczącego wpływu na podatność na aktywne zakażenie prątkami *M. tuberculosis*.

11. Wybrane polimorfizmy genów kodujących receptory TLR i białko adaptorowe TIRAP nie mają znaczącego wpływu na ryzyko rozwoju gruźlicy.

12. Różnorodność danych dostępnych w literaturze i niekiedy sprzeczność wynikających z nich wniosków, mogą być związane z różnicami etnicznymi, liczebnością zakwalifikowanych do badań grup, jak również przyjętymi schematami badań. W przedstawionej pracy badane grupy były stosunkowo liczne i homogenne etnicznie, uzyskane wyniki należy więc traktować jako reprezentatywne dla populacji polskiej.

Anna Sokołowska

