

Gruźlica (TB) wywoływana przez prątki gruźlicy *Mycobacterium tuberculosis* (*M.tb*) pozostaje jedną z najgroźniejszych chorób zakaźnych, z 9 milionami nowych zachorowań i 1,5 milionów zgonów rocznie. Zachorowalność i umieralność na TB wzrosła wraz z pandemią wirusa HIV, a możliwość leczenia TB jest często ograniczona w związku z wzrostem oporności *M.tb* na dostępne leki. Aż 2 miliardy (30%) ludzi jest zakażonych *M.tb*. Są to utajone (latentne), trwające całe życie, zakażenia (Latent Tuberculosis Infection –LTBI) nie dające objawów choroby. W zakażeniach tych prątki są wyciszone metabolicznie. Jednak u około 5%-10% osób z LTBI prątki ulegają reaktywacji powodując aktywną TB. Ryzyko zachorowania na TB jest znacznie wyższe u dzieci. Aktywna TB rozwija się u około 40% niemowląt zakażonych *M.tb*, 24% dzieci w wieku od 1 do 10 lat i 16% młodzieży w wieku 11-15 lat. Diagnozowanie TB jest również trudniejsze u dzieci niż u dorosłych. Szczepionka BCG nie zapewnia pełnej ochrony przed TB chociaż zmniejsza ryzyko gruźlicy rozsianej i ośrodkowego układu nerwowego. Celem prezentowanego projektu jest wykorzystanie najnowocześniejszych technik badawczych do wyznaczenia biomarkerów przeciwegruźliczej odporności protekcyjnej oraz przeciwnie mierzalnych wskaźników aktywnej gruźlicy u dzieci.

Interakcja prątków *M.tb* z układem odpornościowym człowieka jest procesem złożonym, obejmującym kaskadowe reakcje zachodzące w prątkach oraz w komórkach i tkankach gospodarza. Przebieg tych interakcji determinuje to czy ustali się stan równowagi pomiędzy prątkami i układem obronnym człowieka, w którym osłabione metabolicznie prątki nie wywołują choroby tylko stan latentnej infekcji gruźliczej (LTBI) czy przeciwnie mechanizmy obronne gospodarza będą mało wydajne i pozwolą na aktywację metabolizmu prątków, ich rozwój i doprowadzenie do destrukcji tkanek charakteryzujących aktywną gruźlicę (TB). W projekcie planuje się prowadzenie badań wykorzystujących obecną wiedzę i własne doświadczenie w celu precyzyjnego zdefiniowania dużego zestawu cytokin, chemokin, mediatorów zapalenia, których rola w zakażeniach *M.tb* pozostaje niejasna chociaż była już sugerowana. Równolegle zastosowany będzie model „omics” randomizowanych badań kilkuset biologicznych molekuł, które mogłyby być biomarkerami obronnych reakcji determinujących przeciwpątkową odporność lub przeciwnie postępu gruźliczych zmian chorobowych, które mogą pozostać na uboczu w badaniach celowanych. W konstruowanych grupach badań, dzieci z aktywną gruźlicą płuc, z utajonym zakażeniem LTBI oraz dzieci zdrowe, które nie miały kontaktu z *M.tb*, planowane badania pozwolą na definiowanie biomarkerów pochodzenia drobnoustrojowego i gospodarza bezpośrednio w organizmie dziecka. Wykorzystane najnowsze osiągnięcia w zakresie metabolomiki umożliwiają analizę dużych zbiorów małych cząstek (metabolitów) w badanych próbach. Profilowanie około 400 małych cząsteczek, takich jak aminokwasy i ich pochodne, metabolity cyklu glikolizy i kwasów trikarboksylowych, lipidy i steroidy oraz wielu innych pozwolą ustalać różnice pomiędzy dziećmi zdrowymi i chorującymi na TB. W projekcie metabolomiczne profile (sygnatury) surowicy, moczu i rozpuszczalnych efektorów komórek odpornościowych zostaną opracowane z zastosowaniem metod chromatografii cieczowej z tandemową spektrometrią mas, dla dzieci z aktywnym lub latentnym zakażeniem *M.tb* oraz dzieci zdrowych. Techniki te umożliwiają szczegółową i czułą analizę strukturalną wielu komponentów biologicznych występujących w niskim stężeniu w płynach ustrojowych. Dla poznania aktywności komórek układu obronnego w stanie choroby lub zdrowia oraz latentnego zakażenia, zakładane będą hodowle pełnej krwi stymulowane specyficznymi antygenami *M.tb*, w których oceniona zostanie wieloparametrowa odpowiedź cytokinowa i chemokinowa z użyciem systemu Multiplex. System ten umożliwi jednoczesną analizę jakościową i ilościową zestawu 39 cytokin, chemokin i czynników zapalnych w prowadzonych hodowlach, w obecności egzogennych antygenów prątków, i odniesienie tych danych do poziomu wytypowanych czynników w surowicy i moczu osób badanych. Badania te dostarczą nowej wiedzy o środowisku cytokin/chemokin wyróżniającym stan aktywnej gruźlicy i latentnego zakażenia prątkami gruźlicy od stanu prawidłowego. Jednoczesna analiza poziomu badanych czynników w surowicy i zakładanych hodowlach pozwoli wytypować ważne ogniwa odporności przeciwpątkowej, które ulegają osłabieniu pod wpływem zakażających prątków gruźlicy. Zdobyta wiedza może być inspiracją dla tworzenia modeli eksperymentalnych zmierzających do opracowania niezawodnych testów diagnostycznych czy nowych leków.