

Popularnonaukowe streszczenie projektu

Reakcja zapalna organizmu na patogeny atakujące jego tkanki jest niezbędna do zwalczenia zakażenia. Do najważniejszych typów komórek odpowiedzialnych za ten proces należą makrofagi. Posiadają one receptory rozpoznające cząsteczki pochodzenia mikrobiologicznego, takie jak lipopolisacharyd (LPS), składnik budulcowy błony zewnętrznej bakterii Gram-ujemnych. LPS jest rozpoznawany przez CD14, białko obecne w błonie komórkowej makrofagów, które po związaniu cząsteczek LPS przenosi je na receptor TLR4. Pod wpływem LPS receptor TLR4 ulega aktywacji i uruchamia dwa szlaki sygnałowe prowadzące do produkcji cytokin prozapalnych, ułatwiających zwalczenie zakażenia. Pierwszy z tych szlaków jest zapoczątkowywany przez receptor w błonie komórkowej, a drugi w endosomach po internalizacji receptora. Zarówno w aktywacji jak i w endocytozie receptora TLR4 uczestniczy białko CD14. Dojrzewanie endosomów i wędrówka TLR4 do lizosomów kończy szlak sygnałowy i wycisza odpowiedź zapalną.

Aktywacja receptora TLR4 musi podlegać ścisłej kontroli, ponieważ zbyt intensywna odpowiedź komórek na LPS może być przyczyną ogólnoustrojowej reakcji zapalnej – sepsy. Ciężka sepsa i szok septyczny kończą się śmiercią w 30-50% przypadków. Ponadto, długotrwała reakcja zapalna związana z występowaniem we krwi niskich dawek LPS pochodzącego z mikroflory jelitowej przyczynia się do rozwoju otyłości, chorób krążenia i cukrzycy. Do mechanizmów regulujących intensywność odpowiedzi zapalnej na LPS należą degradacja TLR4 oraz krążenie TLR4 i CD14 pomiędzy endosomami a błoną komórkową. Zakładamy, że w obu tych procesach ważną rolę odgrywa kompleks pięciu białek nazywany retromerem. Rola retromeru w makrofagach stymulowanych przez LPS nie była dotąd badana aczkolwiek istnieją dane literaturowe wskazujące na słuszność naszego założenia. Retromer bierze udział w odzyskiwaniu receptorów hydrolaz z endosomów, to znaczy wiąże się do błony endosomu w miejsc występowania tych receptorów „ratując” je przed degradacją i transportując do aparatu Golgiego. Następnie receptory te przenoszą enzymy hydrolityczne z aparatu Golgiego do endosomów. Po uwolnieniu transportowanych enzymów w endosomach, ich receptory są wychwytywane przez retromer, który umożliwia ich ponowny zwrotny transport do aparatu Golgiego i wiązanie kolejnej puli hydrolaz. Taki obieg receptorów hydrolaz gwarantuje efektywny transport tych enzymów z aparatu Golgiego do endosomów, a następnie do lizosomów. Proces ten jest kluczowy do efektywnej degradacji materiału w lizosomach, a zatem może być istotny dla degradacji TLR4, zakończenia jego kaskad sygnałowych i uniknięcia zbyt intensywnej odpowiedzi zapalnej na LPS. Co więcej, retromer jest zaangażowany w zwrotny transport receptorów błonowych z endosomów do błony komórkowej. Uczestnicząc w transporcie TLR4 i CD14 do błony komórkowej retromer mógłby wpływać na intensywność odpowiedzi zapalnej. Dlatego też w projekcie postawiliśmy sobie za cel zbadanie, czy prawidłowe funkcjonowanie retromeru moduluje natężenie szlaków sygnałowych uruchamianych przez TLR4 pod wpływem LPS poprzez sprawną degradację TLR4 i/lub kierowanie TLR4 i CD14 z endosomów z powrotem do błony komórkowej. Poszukamy również mechanizmu regulującego pracę retromeru w komórkach stymulowanych przez LPS. Przypuszczamy, że ważną funkcję w tym procesie odgrywa lipid fosfatydyloinozytolo-4-monofosforan [PI(4)P]. Przesłanką jest tu fakt, że jedno z białek kompleksu retromeru oddziałuje z tym lipidem w endosomach i poprzez to oddziaływanie wpływa na transport białek zależny od retromeru. Po ustaleniu roli retromeru w regulacji szlaków sygnałowych TLR4 sprawdzimy jak funkcjonowanie retromeru wpływa na odpowiedź zapalną wywoływaną przez LPS pochodzący z jelitowych bakterii komensalnych. W tym celu zastosujemy LPS z bakterii *Hafnia alvei* i *Bacteroides thetaiotamicron*, naturalnie zasiedlających przewód pokarmowy. Są to oportunistyczne patogeny, które w warunkach fizjologicznych powodują umiarkowaną odpowiedź zapalną, ale w szczególnych przypadkach, np. po radioterapii wywołują nadmierną reakcję układu odpornościowego. Sprawdzimy, czy ta odpowiedź może być zintensyfikowana na skutek niewystarczającej aktywności retromeru.

Całościowo, proponowany projekt odpowie na pytanie, jak retromer moduluje odpowiedź zapalną makrofagów na LPS. To zagadnienie nie było dotąd badane, dlatego też proponowane badania są nowatorskie i przyczynią się do poszerzenia wiedzy o mechanizmach regulacji odpowiedzi zapalnej makrofagów oraz wskażą fizjologiczne konsekwencje dysfunkcji retromeru w reakcji na oportunistyczne patogeny. W przyszłości wyniki naszych badań mogą być przydatne do opracowania skutecznych leków, które będą w stanie przeciwdziałać nadmiernej odpowiedzi zapalnej, a tym samym zmniejszać śmiertelność sepsy i chorób, w których aktywacja receptora TLR4 ma duże znaczenie.