

POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU

Helicobacter pylori (*H. pylori*) to bakteria zasiedlająca błonę śluzową żołądka ponad połowy populacji ludzi na świecie. U większości osób, zakażenie przebiega bezobjawowo. Jednak u 10-15% takich osób z czasem pałeczka *H. pylori* powoduje rozwój zapalenia błony śluzowej żołądka, wrzodów żołądka a nawet raka tego narządu. Za przebieg zakażenia odpowiadają czynniki bakteryjne oraz predyspozycje osobnicze gospodarza. Z badań genetyczno-archeologicznych wynika, że *H. pylori* towarzyszy człowiekowi od setek tysięcy lat. W toku ko-ewolucji bakteria ta m.in. za pośrednictwem komponentów powierzchniowych, nauczyła się manipulować komórkami odpornościowymi, w taki sposób aby zmylić układ odpornościowy i uniknąć eradykacji. Jedną z unikatowych struktur powierzchniowych o działaniu immunoregulatorowym jest występujący w ścianie komórkowej *H. pylori* lipopolisacharyd (LPS) charakteryzujący się występowaniem długołańcuchowych kwasów tłuszczowych, słabą acylacją i fosforylacją lipidu A oraz występowaniem cukrowych determinantów antygenowych Lewis – struktur występujących zarówno u bakterii jak i jej gospodarza - człowieka. Jego struktura chemiczna sprawia, że w przeciwieństwie do większości bakterii, LPS *H. pylori* jest trudniej rozpoznawalny, słabo pobudza komórki odpornościowe lub nawet hamuje ich aktywność. Wyniki badań uzyskane w naszym zespole wskazują, że LPS *H. pylori* osłabia dojrzewanie monocytów, hamuje aktywność cytotoksyczną oraz proliferację limfocytów oraz zaburza sekrecję cytokin prozapalnych. Odkrycie komórek iNKT (*limfocytów naturalnie cytotoksycznych T*) oraz ich ligandów zrewolucjonizowało postrzeganie potencjału antygenów glikolipidowych (w tym bakteryjnych LPS) względem komórek iNKT. Okazało się, że ta niewielka subpopulacja limfocytów łączy w sobie cechy komórek odporności wrodzonej i nabytej oraz dzięki receptorom V α 24J α 18 TCR rozpoznaje i reaguje na antygeny glikolipidowe. Odkrycie to otworzyło nowy rozdział w bakteriologii i immunologii. LPS *H. pylori*, z uwagi na swoją budowę, występowanie charakterystycznych struktur lipidowych i cukrowych spełnia kryteria potencjalnego ligandu tych komórek, a zatem przypuszczalnie może być rozpoznawany przez receptory komórek iNKT oraz wpływać na ich aktywność a przez to determinować przebieg i konsekwencje zakażenia.

Rola komórek iNKT w zakażeniach *H. pylori* jest słabo poznana. Dlatego celem proponowanych w projekcie badań jest ocena interakcji ligand-receptor pomiędzy różnymi wariantami LPS *H. pylori* (z lub bez determinantów antygenowych Lewis) a receptorami V α 24J α 18 TCR na komórkach iNKT oraz receptorem CD1d komórek dendrytycznych na wielu płaszczyznach, z zastosowaniem metod bezkomórkowych, semikomórkowych oraz hodowli mieszanych. Biorąc pod uwagę wpływ zakażenia *H. pylori* nie tylko na lokalnie gromadzące się komórki błony śluzowej żołądka ale także konsekwencje systemowe, porównamy fenotyp, odsetek oraz stopień aktywacji obwodowych komórek iNKT izolowanych od osób zakażonych lub niezakażonych *H. pylori*.

Badaniem obejmujemy 50 dawców podzielonych na dwie grupy: osoby zakażone i niezakażone *H. pylori*, sklasyfikowane w oparciu o badania serologiczne, oddechowy test mocznikowy oraz wywiad lekarski, przeprowadzony przez klinicystę gastroenterologa. W pierwszym etapie, stosując technikę cytometrii przepływową zbadamy odsetek i fenotyp obwodowych komórek iNKT obu grup badanych. Następnie w teście wiązania ligand-receptor, zbadamy wiązanie różnych form LPS *H. pylori* z receptorami TCR V α 24J α 18 oraz cząsteczkami CD1d oraz określimy siłę i kinetykę takiego wiązania w metodzie powierzchniowego rezonansu plazmowego. Na modelu semikomórkowym sprawdzimy czy wiązanie takie prowadzi do aktywacji uprzednio izolowanych metodą separacji magnetycznej komórek iNKT i komórek dendrytycznych (KD). Na modelu hodowli mieszanej komórek iNKT z KD pulsowanymi LPS *H. pylori* zbadamy czy rozpoznanie antygeny prowadzi do zmian w ekspresji powierzchniowych i wewnątrzkomórkowych markerów aktywacji oraz zaobserwujemy w mikroskopie konfokalnym jak wygląda połączenie, inaczej synapsa immunologiczna, pomiędzy takimi komórkami.

Wyniki uzyskane w proponowanych badaniach pozwolą zrozumieć jaka jest rola komórek iNKT w interakcjach z glikolipidowymi komponentami *H. pylori*. Struktura LPS *H. pylori* tj. występowanie długołańcuchowych kwasów tłuszczowych oraz obecność reszt cukrowych (antygenów Lewis^{XY}) pozwalają sądzić, że komponenta ta może być potencjalnym ligandem komórek iNKT. Odkrycie glikolipidowych struktur *H. pylori* rozpoznawanych przez komórki iNKT zbliża nas do poznania mechanizmów na drodze, których pałeczka *H. pylori* moduluje komórki odpornościowe gospodarza oraz pozwoli opracować podobne komponenty o potencjale terapeutycznym/prewencyjnym.