

Powstanie stanu zapalnego jest niezbędne, aby organizm ludzki mógł zwalczyć zakażenie. W większości przypadków komórki układu odpornościowego działają adekwatnie do zagrożenia. Niekiedy jednak dochodzi do niekorzystnej dla organizmu, zbyt intensywnej reakcji prozapalnej lub antyzapalnej. Pierwsza prowadzi do tzw. „burzy cytokinowej” a druga do immunoparaliżu. „Stan zagrażający życiu, który pojawia się, gdy reakcja na infekcję powoduje uszkodzenia własnych tkanek organizmu” nazywamy sepsą, która według WHO odpowiada za prawie 20% zgonów na świecie. Dzisiaj, podczas pandemii COVID-19 wśród ciężko chorych pacjentów są również osoby, u których rozwinęła się sepsa. Z tych powodów ciągle podejmuje się wysiłki w celu znalezienia wiarygodnych biomarkerów sepsy, umożliwiających identyfikację pacjentów wysokiego ryzyka i opracowywania nowych metod skutecznego leczenia tej choroby.

Wśród białek odgrywających ważną rolę w rozwoju sepsy i innych chorób o tle zapalnym jest CD14. Białko to znajduje się głównie na powierzchni makrofagów, ale jest też obecne w postaci rozpuszczalnej w płynach ustrojowych. CD14 bierze udział przede wszystkim w aktywacji reakcji odpornościowej na cząsteczki pochodzenia bakteryjnego, takie jak lipopolisacharyd (LPS). Ostatnie badania wiążą CD14 ze stanem zapalnym wywołanym przez utlenione fosfolipidy tzw. oxPAPC uwalniane przez uszkodzone tkanki gospodarza. CD14 działa jako transporter: kiedy znajduje się na powierzchni komórki wiąże cząsteczki (swoje ligandy) i przekazuje je na odpowiednie receptory, które następnie uruchamiają odpowiedź prozapalną. CD14 dostarcza więc LPS do receptora Toll-podobnego 4 (TLR4) i indukuje endocytozę aktywowanego receptora, umożliwiając produkcję cytokin. Z kolei oxPAPC są transportowane przez CD14 do wnętrza komórki, gdzie aktywują kaspazę-11 i tak zwany inflamasom. Ten kompleks białkowy uruchamia produkcję cytokin z rodziny IL-1 i aktywuje gasderminę D tworzącą pory w błonie komórkowej przez które uwolnienia jest IL-1. A zatem ilość CD14 obecnego na powierzchni komórki może regulować ich wrażliwość na bodźce prozapalne i kształtować intensywność wywołanej odpowiedzi. To wzbudziło nasze zainteresowanie mało znanymi mechanizmami endocytozy CD14 zarówno konstytutywnej, występującej w komórkach spoczynkowych, jak i tej uruchamianej pod wpływem wiązania ligandu do CD14. Zmierzamy do **zdefiniowania mechanizmów kontrolujących oba typy endocytozy CD14 w makrofagach, co powinno przyczynić się do opracowania nowych strategii regulacji odpowiedzi prozapalnej tych komórek.**

CD14 jest białkiem zakotwiczonym przez lipidowy łącznik, glikozylfosfatydyloinozitol w nanodomenach (tratwach) błony komórkowej, bogatych w sfingolipidy i cholesterol. Dlatego zakładamy, że endocytoza CD14 jest zapoczątkowana przez zmiany w składzie lipidowym tych tratw. Postulujemy, że ceramid (Cer) powstający lokalnie ze sfingomeliny (SM) ułatwia zlewanie się nanodomen i inwaginację błony komórkowej, uruchamiając tym samym endocytozę CD14. Następnie fosforylacja sfingozyny do sfingozyny-1-fosforanu reguluje dalsze etapy endocytozy. Zakładamy również, że związanie ligandu przez CD14 uruchamia zmian w lipidowej modyfikacji - S-palmitoilacji-białek, które działając w połączeniu z przemianami SM kontrolują endocytozę CD14, tak jak to może zachodzić w czasie intensywnej endocytozy nazywanej MEND. Dlatego zbadamy rolę sfingolipidów w konstytutywnej i indukowanej przez LPS / oxPAPC endocytozie CD14 oraz określimy ich wpływ na uruchamianie odpowiedzi prozapalnej. W ramach projektu obserwując komórki przyżyciowo będziemy analizować czy CD14 lokalizuje się w tych samych miejscach co ceramid i sfingozyna, a badania te rozszerzymy na makrofagi pozbawione syntazy sfingomieliny 2. Następnie sprawdzimy czy pewne wytypowane przez nas białka również te S-palmitoilowane regulują endocytozę CD14 i tym samym odpowiedź prozapalną. Aby zidentyfikować S-palmitoilowane białka zaangażowane w endocytozę CD14 będziemy wywoływać endocytozę w makrofagach pozbawionych TLR4, a następnie przeprowadzimy ilościową analizę palmitoilomu z wykorzystaniem spektrometrii mas. Wreszcie, zbadamy rolę endocytozy CD14 i aktywacji inflamasomu w tworzeniu i uwalnianiu presepsy, skróconej formy CD14, która jest brana pod uwagę jako nowy marker sepsy.

Nasze badania wykażą znaczenie endocytozy CD14 w regulacji odpowiedzi prozapalnej makrofagów. Ponadto, odkrycie nowych mechanizmów kontrolujących endocytozę CD14 w przyszłości może stać się punktem wyjścia do opracowywania efektywnych regulatorów reakcji prozapalnych makrofagów.