

Streszczenie

Układ dopełniacza składający się z kilkudziesięciu białek surowicy, stanowi element układu odporności nieswoistej i jedną z pierwszych linii obrony organizmu przed drobnoustrojami. Jego aktywacja może odbywać się poprzez drogę klasyczną, lektynową oraz drogę alternatywną. Mutacje w ścieżce alternatywnej są dobrze poznanym czynnikiem etiologicznym wielu schorzeń autoimmunologicznych (np. mutacje w czynniku B). Dla porównania, wiedza na temat mutacji w składnikach drogi klasycznej/lektynowej i ich roli w chorobach autoimmunologicznych jest bardzo ograniczona. **Celem realizowanej przeze mnie pracy doktorskiej była analiza funkcjonalna oraz potencjalne zastosowanie mutantów wczesnych białek kaskady dopełniacza.** Wyniki uzyskane w ramach projektu pokazują nowatorskie zastosowanie mutantów czynnika B oraz białka C2, będących składowymi kluczowych kompleksów enzymatycznych (konwertaz) drogi alternatywnej oraz klasycznej układu dopełniacza. Co więcej, wyniki te stanowią istotny wkład w poszerzenie wiedzy w zakresie roli układu dopełniacza w rozwoju schorzeń autoimmunologicznych. W projekcie udało mi się wykazać, że mutant czynnika B K323E może stanowić standard w teście wykrywającym obecność przeciwciał patogennych, będących czynnikiem chorobotwórczym glomerulopatii C3. Dodatkowo, zaproponowana przez mnie zmutowana wersja czynnika B może także z powodzeniem pełnić rolę kontroli pozytywnej, do badania przesiewowego na obecność innych czynników, w tym mutacji, wpływających na zmianę aktywności układu dopełniacza. W ramach realizacji projektu dokonałam szerokiej analizy funkcjonalnej mutantów białka C2, otrzymanych na podstawie mutacji zidentyfikowanych u pacjentów ze schorzeniami nefrologicznymi. Spośród przeanalizowanych mutacji jedna (S250C) prowadziła do powstania białka tworzącego nadaktywną i bardziej stabilną konwertazę klasyczną, a efekt ten był bardziej widoczny w obecności inhibitora CD55. W dalszej części projektu opisałam kolejny przypadek pacjenta z mutacją S250C w białku C2 oraz zidentyfikowałam kolejną substytucję R249C prowadzącą do fenotypu „gain-of-function”, wskazując na podatność tego regionu białka na mutacje o charakterze nadania funkcji. Ponadto, badania uzupełniłam o propozycję mechanizmu udziału białek z w/w substytucjami w uszkodzeniu śródbłona naczyń nerek w rozwoju glomerulopatii. Znaczący wzrost depozycji C3b na powierzchni komórek śródbłona nerek po inkubacji z białkiem C-reaktywnym oraz poszczególnymi mutantami białka C2 współgra z obrazem klinicznym, gdzie do manifestacji choroby często dochodzi po przebyciu infekcji. Warto podkreślić, że do tego momentu brak było danych literaturowych na temat naturalnie występujących mutacji w białku C2, a wykonane analizy mogą przyczynić się do lepszego poznania etiologii schorzeń autoimmunologicznych, do poprawy oceny ryzyka, a także do możliwości skonstruowania efektywnej terapii. W kolejnej części projektu udało mi się pokazać, jak przekształcić czynnik potencjalnie patogenny w użyteczne narzędzie o potencjale terapeutycznym. Udowodniłam, że na poziomie *in vitro* mutanty białka C2, które tworzą konwertazę klasyczną o wydłużonym czasie półtrwania, mogą zwiększać efekt cytotoksyczny przeciwciał anti-CD20 na pierwotnych komórkach białaczkowych. Przeciwciała te należą do terapeutyków silnie aktywujących układ dopełniacza i są rutynowo stosowane w leczeniu przewlekłej białaczki limfocytowej oraz chłoniaków nieziarniczych. Moje badania pokazały, że takie białko C2 może nie tylko przyczynić się do obniżenia niezbędnej dawki wspomnianego przeciwciała i w konsekwencji zapobiec wykształceniu oporności, ale także stanowić uniwersalny czynnik wspomagający działanie przeciwciał pierwotnie nieindukujących kaskady dopełniacza. W przypadku pozytywnych wyników przyszłych badań *in vivo* na modelu zwierzęcym, mutanty białka C2 mogą stać się przedmiotem kolejnych badań o charakterze przedklinicznym.