

Streszczenie rozprawy doktorskiej pt.

**ADSORPCJA I AKTYWACJA SKŁADNIKÓW OSOCZOWEGO UKŁADU PRODUKCJI KININ
NA POWIERZCHNI GRZYBÓW Z RODZAJU *CANDIDA***

Do osocznego układu generacji kinin, zwanego również układem kontaktu, należą zymogeny dwóch proteinaz serynowych: czynnik XII (FXII) i prekalikreina (pHPK), oraz białkowy prekursor kinin - wielkocząsteczkowy kininogen (HK). Składniki tego systemu mogą ulegać adsorpcji na powierzchni komórek gospodarza jak również na powierzchni chorobotwórczych bakterii. Aktywacja układu kontaktu prowadzi do produkcji kinin, uniwersalnych mediatorów stanu zapalnego odpowiadających za występowanie jego głównych objawów: bólu, zaczerwienienia, obrzęku, obniżenia ciśnienia krwi, zwiększenia przepuszczalności naczyń krwionośnych oraz wysięku osocza, co może mieć duże znaczenie dla rozprzestrzeniania się patogenu w organizmie gospodarza podczas rozwoju infekcji. To zjawisko jest dość dobrze poznane i opisane w przypadku bakterii, w przeciwieństwie do oportunistycznych patogenów grzybiczych należących do rodzaju *Candida*, będących przyczyną coraz bardziej rozpowszechnionych poważnych ogólnoustrojowych i narządowych zakażeń.

Celem niniejszej pracy było scharakteryzowanie zjawiska adsorpcji składników układu kontaktu: HK, FXII oraz pHPK do powierzchni komórek grzybów należących do gatunków *C. albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* i *C. tropicalis* oraz wykazanie możliwości aktywacji tego układu i w konsekwencji produkcji kinin z kininogenu wielkocząsteczkowego.

W badaniach wykorzystywano adhezyjne formy strzępkowe gatunków *C. albicans* i *C. tropicalis* oraz białka powierzchniowe izolowane metodą enzymatyczno-chemiczną z ich ściany komórkowej. W obydwu modelach wykazano silne wiązanie FXII i HK przez komórki grzybów oraz nieco słabszą adsorpcję pHPK, przy czym niewielka dodatkowa ilość pHPK mogła być wiązana z powierzchnią *Candida* sp. za pośrednictwem uprzednio związanych cząsteczek HK, jak ma to miejsce na powierzchni komórek ludzkich. Co więcej, zaobserwowano częściową kompetycję pomiędzy poszczególnymi białkami układu kontaktu o wiązanie z powierzchnią *C. albicans* i *C. tropicalis*, co świadczy o tym, iż niektóre miejsca wiążące na powierzchni patogenu mogą być wspólne dla pHPK, FXII oraz HK. Jak wykazano, w konsekwencji zgromadzenia na powierzchni form strzępkowych *C. albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* i *C. tropicalis* wszystkich składników układu generacji kinin, jak również podczas kontaktu tych komórek z ludzkim osoczem, w krótkim czasie dochodziło do produkcji znacznej ilości aktywnych biologicznie kinin.

Precyzyjnie wskazano fragmenty HK odpowiadające za adsorpcję na powierzchni komórek *Candida* sp., wykorzystując w tym celu szereg syntetycznych peptydów mapujących określone fragmenty kininogenu oraz przeciwciała skierowane przeciwko wybranym regionom HK i identyfikując konkretne sekwencje aminokwasowe w domenie 3 łańcucha ciężkiego oraz w domenie 5 i 6 łańcucha lekkiego HK. Ponadto wskazano na łańcuch ciężki, zarówno w przypadku cząsteczki FXII, jak i pHPK, jako na główne fragmenty odpowiedzialne za wiązanie tych zymogenów przez białka izolowane ze ściany komórkowej *C. albicans*.

Wytypowano również główne powierzchniowe białka *C. albicans* wiążące HK. Wykorzystując złożę do chromatografii powinowactwa z unieruchomionym HK wyizolowano z puli białek pochodzących ze ściany komórkowej i zidentyfikowano receptory wiążące HK, wśród których znajduje się typowa adhezyna Als3p oraz enzymy: enolaza, mutaza fosfoglicerynianowa i izomeraza triozofosforanowa.

Przedstawione wyniki kompleksowo charakteryzują oddziaływania pomiędzy białkami układu generacji kinin a powierzchnią komórek patogennych grzybów z rodzaju *Candida*, dowodząc, iż aktywacja układu kontaktu i związana z nią produkcja wazoaktywnych i prozapalnych kinin przy powierzchni patogenu może być dodatkowym mechanizmem patogenezы infekcji wywoływanych przez te mikroorganizmy.