

Streszczenie

Rola wybranych katepsyn i cystatyn w zakażeniu wirusem ektromelii komórek dendrytycznych myszy – badania modelowe *in vitro*

Katepsyny (Cts) należą do proteaz cysteinowych i odgrywają istotną rolę w przetwarzaniu pobranych antygenów na peptydy podczas ich prezentacji w kontekście cząsteczek głównego układu zgodności tkankowej (MHC) klasy I lub II. Aktywność katepsyn jest regulowana przez cystatyny (Cst) – endogenne inhibitory proteaz. Komórki dendrytyczne (DC) są wyspecjalizowanymi komórkami prezentującymi antygen (APC), odpowiedzialnymi za inicjowanie nabytej odporności przeciwko czynnikom zakaźnym, w tym wirusom. Wirus ektromelii (ECTV) jest jedynym przedstawicielem rodzaju *Orthopoxvirus*, mogącym namnażać się produktywnie w DC, zaburzając liczne funkcje tych komórek, w tym ich zdolność do prezentacji antygeny i aktywacji antygenowo-swoistych limfocytów T. Dlatego celem pracy było zbadanie wpływu zakażenia ECTV na poziom wybranych katepsyn i cystatyn w DC oraz określenie, czy niedobór tych enzymów oddziałuje na tempo replikacji ECTV w DC oraz na ich funkcjonowanie jako APC w trakcie zakażenia wirusowego. Uzyskane wyniki wykazały, że podczas zakażenia ECTV dochodzi do obniżenia ekspresji zarówno genów, jak i poziomu Cts B, L i S oraz Cst B i C w mysich DC ustalonej linii JAWS II oraz pierwotnej hodowli DC, uzyskanej z komórek prekursorowych szpiku myszy C57BL/6 (GM-BM). Po wyciszeniu ekspresji badanych katepsyn przy użyciu siRNA obserwowano zwiększone miano wirusa w komórkach JAWS II i GM-BM w porównaniu do komórek kontrolnych z prawidłowym poziomem tych białek. Jednakże wyciszenie ekspresji katepsyn nie skutkowało nasileniem hamującego wpływu ECTV na wydzielanie cytokin prozapalnych i dojrzewanie komórek JAWS II i GM-BM oraz na zdolność GM-BM do indukcji proliferacji limfocytów T. Ponadto niedobór katepsyn nie wpływał zasadniczo na wrodzone i nabyte funkcje odpornościowe DC, po traktowaniu LPS w trakcie zakażenia ECTV. Związek pomiędzy obniżoną ekspresją katepsyn B, L i S a zwiększeniem tempa replikacji ECTV potwierdzono także w innych komórkach układu odpornościowego z grupy APC –makrofagach, przy użyciu linii RAW 264.7. Podsumowując, obniżenie poziomu katepsyn i cystatyn wraz ze zwiększonym mianem ECTV podczas niedoboru tych enzymów jest najprawdopodobniej wirusową strategią efektywnej replikacji ECTV w zakażonych komórkach. Ponieważ deficyt katepsyn nie pogłębia hamującego wpływu ECTV na liczne wrodzone i nabyte funkcje odpornościowe DC, przypuszczalnie zdolność ECTV do obniżania ekspresji katepsyn w DC nie reprezentuje strategii unikania odporności, lecz stanowi mechanizm przetrwania w wyspecjalizowanych komórkach układu odpornościowego.

Słowa kluczowe: katepsyny, cystatyny, wirus ektromelii, komórki dendrytyczne