

Załączniki:

Streszczenie pracy doktorskiej z akceptacją promotora.

Choroba Hashimoto (Hashimoto's thyroiditis, HT) należy do grupy autoimmunizacyjnych chorób tarczycy (AITD). Rozwój HT związany jest z utratą tolerancji immunologicznej na własne antygeny tarczycy, co prowadzi do wnikania aktywowanych limfocytów do tkanki tego gruczołu i powoduje niszczenie komórek pęcherzykowych (tyreocytów). W efekcie dochodzi do spadku produkcji hormonów, czyli stanu niedoczynności tarczycy. HT charakteryzuje się obecnością w surowicy przeciwciał skierowanych przeciw własnym antygenom tarczycy, peroksydazie tarczycowej (TPO) i tyreoglobulinie (Tg). Przyczyną zniesienia tolerancji na własne antygeny i rozwoju choroby Hashimoto są czynniki genetyczne oraz środowiskowe. Zmiany zachodzące na poziomie molekularnym oraz konsekwencje funkcjonalne tych zmian są słabo poznane. Jednym z niezbadanych dotychczas aspektów tej choroby są zmiany w procesie glikozylacji białek.

Celem przeprowadzonych badań była analiza strukturalna *N*-glikanów białek surowicy oraz ocena funkcjonalna zmian glikozylacji. Badania przeprowadzono na surowicy pacjentów z HT (grupa badana, $n=51$) i zdrowych dawców (grupa kontrolna, $n=61$) dobranych pod względem płci i wieku. Dawców z HT rekrutowano na podstawie podwyższonego miana przeciwciał anti-TPO i anti-Tg oraz obrazu USG tarczycy charakterystycznego dla AITD. Metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) wykonano ocenę ilościowych zmian zawartości struktur *N*-glikanów po deglikozylacji białek surowicy między grupą badaną i kontrolną. Metodą spektrometrii mas (MS) określono struktury *N*-glikanów białek surowicy. Sjalilację i fukozylację białek analizowano również metodą lektynową. Analiza MS wykazała, że frakcja *N*-glikanów, której zawartość istotnie statystycznie wzrasta w HT, zawiera dwie struktury kompleksowe: jednosjalowaną trzyantennową (A3G3S) oraz dwusjalowaną dwuantennową z fukozą antenową (FA2G2S2). W analizie z użyciem lektyn specyficznych dla fukozy i kwasu sjalowego (SA) stwierdzono istotny statystycznie spadek zawartości rdzeniowej fukozy oraz wzrost α 2,3-sjalilacji białek w próbkach surowicy dawców z HT.

Analizę funkcjonalną wykazanych w przebiegu HT zmian glikozylacji IgG wykonano na modelach *in vitro* cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał (ADCC) i cytotoksyczności zależnej od dopełniacza (CDC). Komórkami docelowymi były ludzkie komórki pęcherzykowe tarczycy linii Nthy-ori 3-1 i komórki nowotworowe tarczycy linii FTC-133. Rolę komórek efektorowych w modelu ADCC spełniały komórki monojądrzaste krwi obwodowej (PBMC) zdrowych dawców oraz ludzkie komórki białaczki mieloidalnej linii HL-60. Komórki efektorowe były aktywowane przez przeciwciała klasy G (IgG) izolowane metodą chromatografii powinowactwa od zdrowych dawców i chorych z HT. Źródłem dopełniacza w modelu CDC była surowica pochodząca od zdrowych dawców. W celu oceny roli glikozylacji IgG na efektorowe funkcje przeciwciał cząsteczki IgG poddano działaniu neuraminidazy odcinającej SA od oligosacharydów. Wykazano zwiększoną liczbę tyreocytów w obecności IgG od dawców z HT w porównaniu z kontrolą w obu modelach. Desjalilacja IgG nasilała intensywność ADCC oraz zmniejszała liczbę w procesie CDC w HT w porównaniu do kontroli.

Przeprowadzone badania wskazują, że w przebiegu choroby Hashimoto dochodzi do zmian sjalilacji białek surowicy. Zmieniona w HT glikozylacja IgG jest istotna w procesach niszczenia tyreocytów stanowiących jeden z elementów patologii tej choroby. Uzyskane wyniki stanowią wkład w zrozumienie procesów patologicznych zachodzących w chorobie Hashimoto.

Marta Zdobychowska
za Docenta