

Streszczenie w języku polskim

Zewnątrzkomórkowe sieci neutrofilowe (NET) stanowią ważną strategię obronną w przebiegu infekcji, w której ich główną rolą jest wyłapywanie, unieruchamianie i ostatecznie eliminacja patogenów, ale tworzone w nadmiarze, mogą prowadzić do rozwoju chorób. Wciąż jednak niewiele wiadomo na temat metabolicznych oraz mikrośrodowiskowych aspektów ich powstawania, czym zajmuje się nowa dziedzina badań jaką jest immunometabolizm. W związku z trudnościami technicznymi badania NET w warunkach *in vivo*, w obecnej pracy opisano podejście techniczne do wykrywania/obrazowania NET w czasie rzeczywistym z zastosowaniem mikroskopii przyżyciowej (IVM) w wybranych narządach/tkankach myszy, w tym w naczyniach krwionośnych wątroby. Badania zawarte w rozprawie przeprowadzono na modelu zapalenia ogólnoustrojowego - sepsy, syndromu obciążonego wysoką śmiertelnością. Dane epidemiologiczne wskazują, że osoby otyłe mogą mieć większe szanse na jej przeżycie, a zjawisko to nazwano „paradoksem otyłości w sepsie”. Celem wyjaśnienia paradoksu, a przede wszystkim uwarunkowań immunometabolicznych tworzenia NET w przebiegu sepsy, w niniejszej rozprawie zbadano (i) powstawanie NET *in vivo* w czasie zapalenia ogólnoustrojowego myszy o prawidłowej masie ciała i otyłych, (ii) przemiany metaboliczne zachodzące w neutrofilach w czasie wyrzutu NET *ex vivo*, (iii) wpływ czynników mikrośrodowiska (dostępność miedzi) mogących regulować wyrzut sieci *in vivo*.

Wykazano, że powstawanie NET w układzie naczyniowym wątroby myszy otyłych jest upośledzone, ze względu na nieprawidłowe interakcje na linii płytki krwi-neutrofile-NET, wynikające z nadekspresji P-selektyny. Co ważne, wykazano, że neutrofile myszy otyłych zachowują zdolność do wyrzutu NET *ex vivo*, co wskazuje na rolę mikrośrodowiska w ich tworzeniu.

Tworzenie NET jest procesem konsumującym energię, która jest głównie generowana w procesach glikolizy i/lub szlaku pentozofosforanowego (neutrofile myszy szczupłych), jednak neutrofile septycznych myszy otyłych wykorzystują te szlaki jedynie do spontanicznego wyrzutu sieci, natomiast po wtórnej aktywacji *ex vivo* wykazują tzw. „zmęczony fenotyp”.

W związku z tym, że mikrośrodowisko organizmu w warunkach otyłości determinuje potencjał neutrofilów do wyrzutu NET, w badaniach zweryfikowano także rolę mikroelementu jakim jest miedź. Wykazano, że zarówno niedobór, jak i nadmiar tego pierwiastka prowadzi do ograniczonego wyrzutu NET w warunkach *in vivo*, co wynika, odpowiednio, z upośledzonej migracji neutrofilów, bądź hamującego działania miedzi.

Reasumując, w niniejszej rozprawie wykazano, że powstawanie NET podlega regulacji immunometabolicznej. Zrozumienie ścieżek biochemicznych kontrolujących wyrzut NET w przebiegu sepsy, stanowi podstawy do opracowania nowych, skutecznych terapii chorób, w których tworzenie NET wiąże się z rozwojem stanów patologicznych.

Monika Ochani
Zubir Khan

Streszczenie w języku angielskim

Neutrophil extracellular traps (NETs) are an important defense strategy employed in the course of infection in which their primary role is to capture, immobilize and ultimately eliminate pathogens, but excessively produced might lead to diseases. However, little is known about the metabolic and microenvironmental aspects of their formation on which a new field of research concentrates i.e. immunometabolism. Due to the technical difficulties of studying NETs *in vivo*, description of the technical approach to real-time detection/imaging of NETs by intravital microscopy (IVM) is described in the thesis in numerous organs/tissues of mice, including liver sinusoids. The research included in the dissertation was carried out on the systemic inflammation model - sepsis, a syndrome with high mortality. Epidemiologic data suggest that obese individuals might have better chances of surviving sepsis and thus the term "obesity paradox in sepsis" was coined. In order to explain the paradox, and above all, the immunometabolic determinants of NET formation in the course of sepsis, the studies presented in the dissertation focused on investigating (i) NET formation during systemic inflammation *in vivo* in lean and obese mice, (ii) metabolic changes occurring in neutrophils during NET ejection *ex vivo*, (iii) impact of microenvironmental factors (copper availability) in regulation of NET release.

The studies revealed that formation of NETs in the liver vasculature of obese mice is impaired due to inadequate platelet-neutrophil-NET interactions resulting from overexpression of P-selectin. Importantly, it was shown that neutrophils of obese mice retain the ability to eject NET *ex vivo*, which indicates the role of the microenvironment in their formation.

NET formation is an energy consuming process that relies mostly on glycolysis and/or the pentose phosphate pathway (neutrophils of lean mice) whereas neutrophils of septic obese mice use these pathways for spontaneous NET ejection exclusively, but after secondary activation *ex vivo* they exhibit the so-called "exhausted phenotype".

As the unique microenvironment of the obese organism determines the potential of neutrophils to eject NETs, the role of the micronutrient copper in NET formation was further studied. Both, its deficiency and excess, led to a diminished NET release *in vivo* as a result of either impaired neutrophil migration or the inhibitory effect of copper, respectively.

In conclusion, data presented in the dissertation show that the formation of NETs is subjected to the immunometabolic regulation. A better understanding of the biochemical pathways controlling NET release in the course of sepsis might help in developing new effective therapies for the treatment of diseases associated with pathological NET formation.

Monika Gdhan

Elżbieta Gdhan