

STRESZCZENIE

Szczepionka BCG (*Bacillus Calmette-Guérin*) zawierająca atenuowany szczep *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), stanowi jedyną dostępną szczepionkę przeciwgruźliczą na świecie. Pomimo ponad stuletniego stosowania, jej skuteczność w ochronie przed *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*) pozostaje ograniczona, szczególnie w przypadku dorosłych. U dzieci zapewnia ona skuteczną ochronę przed ciężkimi postaciami gruźlicy, takimi jak gruźlicze zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych czy gruźlica rozsiana. Poza ochroną swoistą przeciwko gruźlicy, szczepionka BCG wywiera istotny wpływ na układ odpornościowy, wywołując nieswoiste efekty ochronne wobec innych niż prątki patogenów. Mechanizmem leżącym u podstaw tego zjawiska jest tzw. wytrenowana odporność (ang. *trained immunity*) wynikająca z epigenetycznego przeprogramowania komórek odporności wrodzonej, która może prowadzić do ich zwiększonej gotowości do odpowiedzi na kolejne bodźce patogenne, również niespokrewnione z pierwotnym czynnikiem infekcyjnym inicjującym te zmiany.

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej była ocena nieswoistej odpowiedzi odpornościowej u dzieci w wieku 6-12 lat, szczepionych BCG w okresie noworodkowym, z uwzględnieniem indukowanych przez BCG mechanizmów wytrenowanej odporności weryfikowanych na podstawie odpowiedzi leukocytów pełnej krwi obwodowej na bodziec homologiczny (prątki BCG) lub heterologiczny (antygeny syncytialnego wirusa oddechowego - RSV (ang. *respiratory syncytial virus*) i SARS-CoV-2 (ang. *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*)), w hodowlach *in vitro*. Do realizacji założonego celu zastosowano model hodowli komórkowej *in vitro* oparty na stymulacji leukocytów pełnej krwi obwodowej dzieci prątkami szczepionkowymi BCG lub antygenami wirusów oddechowych RSV lub SARS-CoV-2, niezależnie lub łącznie. W badaniu uwzględniono status serologiczny dzieci w zakresie przeciwciał przeciwko RSV i/lub SARS-CoV-2. Jako wyznaczniki odpowiedzi odpornościowej nieswoistej u badanych dzieci przyjęto: zdolność leukocytów do wytwarzania kluczowych cytokin pro- (IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8, TNF- α) i przeciwzapalnych (IL-4, IL-10), odpowiedź interferonową w zakresie wytwarzania IFN- α , IFN- β , IFN- γ , nasilenie ekspresji receptorów powierzchniowych na monocytach, w tym CD14, CD11b, HLA-DR, CD206 oraz receptora NOD2 pełniącego m.in. rolę sensora komponentów ściany komórkowej prątków. Uwzględniono także ocenę zmienności

genetycznej receptora NOD2, która może wpływać na przebieg odpowiedzi immunologicznej badanych dzieci.

Wyniki badań wskazują, że szczepienie BCG w okresie noworodkowym może prowadzić do rozwoju wytrenowanej odporności wrodzonej kształtującej profil reakcji komórek immunokompetentnych na antygeny czynników zakaźnych, takich jak RSV i SARS-CoV-2. Charakter tej modulacji zależy od statusu serologicznego dziecka - u dawców seronegatywnych w zakresie przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2 i RSV dominowały mechanizmy przeciwwirusowe charakteryzujące się wzrostem ekspresji mRNA IFN- β i IL-2, natomiast u dawców seropozytywnych obserwowano jednoczesną aktywację odpowiedzi prozapalnej, (wzrost ekspresji mRNA IL-1 β , IL-6, TNF- α) oraz regulatorowej (wzrost ekspresji mRNA IL-4 i IL-10), co wskazuje na synergistyczne współdziałanie wytrenowanej odporności z nabytą pamięcią immunologiczną. Ponadto wykazano wzrost ekspresji receptora NOD2, w leukocytach szczególnie po ich kostymulacji *in vitro* prątkami BCG i antygenami wirusów RSV/SARS-CoV-2, korelujący z poziomem mRNA cytokin zarówno pro- jak i przeciw-zapalnych, co pozwala sugerować, że receptor NOD2 może wpływać na przebieg odpowiedzi zapalnej, modulując jej charakter w zależności od wcześniejszych ekspozycji na czynniki zakaźne, takie jak RSV/SARS-CoV-2. Dodatkowo obserwowano zwiększoną ekspresję receptorów monocytów (CD14, HLA-DR), po stymulacji prątkami BCG i/lub antygenami wirusowymi, co może potwierdzać utrzymywanie się efektów wytrenowanej odporności wrodzonej. Jednocześnie zróżnicowanie ekspresji receptorów CD11b i CD206 sugeruje, że BCG może modulować kierunek aktywacji monocytów – od prozapalnej do regulacyjnej, w zależności od wcześniejszej ekspozycji na antygeny wirusowe, co wskazuje na dynamiczny i złożony charakter odpowiedzi odpornościowej indukowanej przez szczepienie BCG.

Uzyskane wyniki sugerują, że prątki BCG nie tylko wzmacniają mechanizmy przeciwwirusowe leukocytów, ale także stymulują rozwój odpowiedzi prozapalnej i ograniczają nadmierną reakcję zapalną, co przejawia się poprzez modulację ekspresji NOD2 w porównaniu z ekspresją cytokin pro- lub przeciwzapalnych. Taki „ślad immunologiczny” pozostawiony po szczepieniu BCG podkreśla znaczenie wytrenowanej odporności jako mechanizmu wspierającego odporność populacyjną wobec różnych patogenów oraz wskazuje na potencjał tej szczepionki jako narzędzia immunomodulacyjnego w profilaktyce chorób zakaźnych.