

mgr Zuzanna Sas

Streszczenie w języku polskim

Hemoglobina (Hb) to białko znajdujące się w erytrocytach, którego główną funkcją jest transport tlenu i dwutlenku węgla w organizmie. Kiedy Hb zostaje uwolniona z erytrocytów do krążenia lub do otaczających tkanek, może wykazywać właściwości cytotoksyczne, prozapalne i prooksydacyjne. Znaczące ilości Hb są uwalniane podczas fizjologicznej lizy erytrocytów, ponadto nadmierna hemoliza towarzyszy wielu wrodzonym i nabytym chorobom. Fizjologicznie do 10% erytrocytów może ulegać lizie w krążeniu, zwłaszcza w śledzionie, gdzie odbywa się usuwanie starzejących się erytrocytów. Kanonicznie, wolna Hb jest wychwytywana przez osoczowe białko ostrej fazy - haptoglobinę. Kompleksy Hb-haptoglobina są wiązane przez receptor CD163 obecny na makrofagach śledziony i wątroby, gdzie Hb jest degradowana. Jednak warunki hemolityczne mogą prowadzić do wyczerpania populacji tych makrofagów, a także niedoboru haptoglobiny, co sugeruje istnienie alternatywnych mechanizmów usuwania Hb. Dotychczas nie zostały opisane inne sposoby usuwania wolnej Hb.

Celem niniejszej pracy było zidentyfikowanie i zbadanie nowej drogi wychwytu wolnej Hb w wątrobie, niezależnej od haptoglobiny i receptora CD163. Badania przeprowadzono na modelu mysim oraz na hodowlach komórek pierwotnych uzyskanych z mysiej wątroby. Aby jak najlepiej naśladować warunki fizjologiczne, w eksperymentach wykorzystano Hb izolowaną z mysiej krwi. Losy Hb i jej biodystrybucję w organizmie śledzono za pośrednictwem znakowania fluorescencyjnego z wykorzystaniem barwnika Alexa Fluor lub znakowania izotopem jodu.

Badania przeprowadzone z wykorzystaniem podanych dożylnie liposomów kwasu kłodronowego i fluorescencyjnie znakowanej Hb wykazały, że Hb akumuluje się głównie w wątrobie niezależnie od obecności makrofagów. Za pomocą cytometrii przepływowej i mikroskopii konfokalnej zaobserwowano, że sinusoidalne komórki śródbłonna wątroby (LSEC) są główną populacją komórek wątroby odpowiedzialną za wychwyt wolnej Hb, zarówno w niskich, jak i wysokich stężeniach. Co ciekawe, wykazano, że LSEC nie posiadają na swojej powierzchni receptora CD163 odpowiedzialnego za wychwyt kompleksu Hb-haptoglobina, a wolna Hb była wychwytywana efektywniej niż Hb związana z haptoglobiną. Barwienie

pierwotnych LSEC z wykorzystaniem markera wczesnych endosomów (EEA1) i fluorescencyjnie znakowanej Hb wykazało obecność Hb w wewnątrzkomórkowych pęcherzykach o wielkości charakterystycznej dla makropinosomów. Zaobserwowano także kolokalizację Hb i dekstranu będącego markerem fazy płynnej, która ulega wychwytowi w makropinosomach. Dodatkowo wykazano, że inhibitor makropinocytozy (EIPA) spowodował zahamowanie pobierania Hb przez LSEC, w przeciwieństwie do inhibitora endocytozy (CPZ). Uzyskane wyniki wskazują, że w warunkach fizjologicznych LSEC są główną populacją komórek odpowiedzialną za wychwyt wolnej Hb, którą pobierają za pomocą makropinocytozy.