

lek. Grzegorz Gula

Potencjalne funkcje populacji makrofagów serca płodowego

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: prof. dr hab. Anna Ratajska

Katedra Patomorfologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2022

Streszczenie w języku polskim

Wstęp

Makrofagi w ostatnim czasie zyskały ponownie zainteresowanie naukowców, gdyż odkryto ich nowe funkcje, istotne m. in. w utrzymywaniu homeostazy układu krążenia. Wiedza o makrofagach została poszerzona o dodatkowe, prenatalne źródła ich pochodzenia oraz fakty dotyczące dużej różnorodności i plastyczności makrofagów w odpowiedzi na sygnały pochodzące z zasiedlanych przez te komórki niszy tkankowych. Mimo postępu wiedzy o makrofagach, populacja makrofagów płodowych serca pozostaje nadal mało poznana. Celem pracy było zatem zbadanie fenotypów, w tym markerów komórkowych, które były podstawą do wyodrębnienia subpopulacji makrofagów oraz wskazanie potencjalnych funkcji makrofagów w niektórych procesach morfogenezy serca. Charakterystykę populacji makrofagów uzupełniono badaniami progresji zasiedlania przez te komórki różnych obszarów serca podczas rozwoju prenatalnego.

Metody

Makrofagi w sercach płodowych myszy wizualizowano metodami immunohistochemicznymi w badaniach *in situ* na skrawkach mrożonych i preparatach whole-mount. Do wyodrębnienia i analizy subpopulacji makrofagów serca zastosowano cytometrię przepływową z funkcją sortowania oraz mikroskopię konfokalną. Ponadto zastosowano metodę RT-PCR w celu porównania ekspresji mRNA dla genów regulujących procesy angiogenezy, limfangiogenezy oraz przebudowy macierzy pozakomórkowej, pomiędzy wyodrębnionymi subpopulacjami makrofagów w dwóch stadiach rozwoju serca – E14 i E17.

Wyniki

Pierwsze makrofagi w sercu zaobserwowano od stadium E10 i były one początkowo zlokalizowane głównie w obszarze podnasierdza w pobliżu nowotworzących się naczyń krwionośnych, jak i chłonnych. Niektóre subpopulacje makrofagów (np. wykazujące ekspresję cząsteczki Lyve-1), położone w pobliżu kapilar krwionośnych przybierały rozgałęziony kształt. W dalszych etapach rozwoju znajdowano makrofagi w ścianie miokardium oraz w obszarze intensywnej apoptozy, tj. w poduszczkach wsierdziowych drogi odpływu oraz kanału przedsionkowo-komorowego, gdzie przyjmowały one owalny, okrągły lub wrzecionowaty kształt. Populacja makrofagów serca płodowego składa się z kilku subpopulacji, które wyodrębniono w badaniach *in situ* oraz w cytometrii przepływowej. Zidentyfikowano i wysortowano subpopulacje makrofagów serca płodowego o następujących fenotypach: CD64^{low}, CD64^{high}CD206⁻ oraz CD64^{high}CD206⁺, które charakteryzowały się ekspresją mRNA dla genów, odpowiednio: *VEGFc*, *VEGFa* oraz *IGF1*, *MMP13*. Ekspresję

mRNA dla *Retna/FIZZ1*, *Ym1/Chil3*, *bFGF* wykazano jedynie w późniejszym stadium rozwoju (E17), wyłącznie w subpopulacji makrofagów CD64^{low}.

Wnioski

Analiza fenotypów makrofagów serca płodowego dostarczyła informacji na temat nowych subpopulacji makrofagów, jak również ich potencjalnej roli w regulacji angiogenezy, limfangiogenezy oraz udziału w przebudowie macierzy zewnątrzkomórkowej.