

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: **Badanie kinetyki zmian ekspresji genów związanych z homeostazą żelaza w komórkach wątroby pod wpływem akumulacji żelaza w hepatocytach**

2. Czas trwania projektu: **11 czerwca 2018 – 11 czerwca 2019**

3. Słowa kluczowe: BMP6, ferritin, LSEC, iron homeostasis

4. Cel projektu (art. 3 ustawy): A: Badania podstawowe: układ żołądkowo-jelitowy z uwzględnieniem wątroby

A. Badania podstawowe

B. Badania translacyjne lub stosowane

C. Badania mające na celu zachowanie gatunku

D. Badania z zakresu medycyny sądowej

E. Badania zapewniające poprawę dobrostanu zwierząt lub warunków chowu lub hodowli zwierząt gospodarskich

F. Badania w celu opracowania i produkcji produktów leczniczych, środków spożywczych, pasz lub innych substancji lub produktów, lub badań ich jakości, skuteczności lub bezpieczeństwa stosowania

G. Badania w celu ochrony środowiska naturalnego

H. Badania w celu kształcenia na poziomie szkolnictwa wyższego lub szkolenia w celu nabycia lub doskonalenia kompetencji zawodowych

5. OPIS PLANOWANEGO DOŚWIADCZENIA

Utrzymanie odpowiedniej równowagi żelaza jest niezbędne dla prawidłowego funkcjonowania organizmu. Naszym celem jest lepsze zrozumienie molekularnych podstaw wyczuwania poziomu żelaza w organizmie przez komórki wątroby, w celu utrzymania ogólnoustrojowej równowagi tego pierwiastka. BMP6 to białko sekrecyjne, które jest ważnym sensorem poziomu żelaza. Stymuluje ono ekspresję hepcydyny, hormonu produkowanego przez hepatocyty, kluczowego dla regulacji ogólnoustrojowej homeostazy żelaza. Poziom transkrypcji *Bmp6* w wątrobie jest kontrolowany przez status żelaza w organizmie. Niedawno wykazano, że głównymi komórkami produkującymi BMP6 są komórki śródbłonkowe zatok (liver sinusoidal endothelial cells, LSEC). Pomimo tej wiedzy, nie jest jasne, w jaki sposób podwyższony poziom żelaza w organizmie przekłada się na zwiększony poziom śródbłonkowej ekspresji *Bmp6*. Celem naszego projektu jest zatem charakteryzacja zależnych od żelaza i nadal słabo poznanych mechanizmów regulujących *Bmp6* w tych wyspecjalizowanych komórkach. Nasze wstępne dane sugerują, że czynnik wydzielany przez hepatocyty może być sygnałem indukującym ekspresję *Bmp6*. Nasze wyniki *in vitro* wskazują, że jednym z takich czynników może być ferrytyna, białko magazynujące żelazo, które

jest też uwalniane przez komórki i którego funkcje pozakomórkowe nadal nie są dobrze zrozumiane. W naszych badaniach będziemy zatem dążyć do scharakteryzowania mechanizmu kontroli *Bmp6* poprzez komunikację między hepatocytami i komórkami LSEC za pośrednictwem ferrytyny *in vivo*. Celem zaproponowanych procedur będzie dożylne podanie myszom cytrynianu żelaza, który jest preferencyjnie pobierany przez hepatocyty, w celu określenia czy indukcja stresu oksydacyjnego w hepatocytach, ze wzrostem ekspresji ferrytyny, poprzedza odpowiedź genu *Bmp6* w komórkach LSEC.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

82 samców bądź samic Myszy domowej (*Mus musculus*; szczep C57BL/6)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

Przygotowując projekt badawczy, rzetelnie analizowałam istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, używając takich źródeł jak PUBMED i Google Scholar. Użyłam następujących słów kluczowych: BMP6, ferritin, LSEC, iron homeostasis. Na podstawie przeszukiwania literatury i bazując na wieloletnim doświadczeniu z mojego pola badań, stwierdzam, że scharakteryzowanie mechanizmu komunikacji między hepatocytami i komórkami LSEC za pośrednictwem ferrytyny, który może być zaangażowany w kontrolę ekspresji *Bmp6*, nigdy nie zostało przeprowadzone.

Na wcześniejszych etapach projektu wykonaliśmy szereg analiz *in vitro* na modelach komórek LSEC. Badania te pokazały, że w warunkach akumulacji żelaza w komórkach LSEC nie następuje indukcja *Bmp6*. Zaobserwowaliśmy natomiast, że wzrost ekspresji *Bmp6* zachodzi w odpowiedzi na ferrytynę, białko gromadzące żelazo wewnątrz komórek, które również może pełnić wciąż mało poznane funkcje zewnątrzkomórkowe. Jako, że ferrytyna może być wydzielana z hepatocytów, i proces ten może być aktywowany przez gromadzenie żelaza, postawiliśmy hipotezę, że ferrytyna może być czynnikiem komunikującym poziom żelaza w hepatocytach do komórek LSEC. Zaproponowane w tym wniosku badania umożliwią nam weryfikację naszych hipotez *in vivo*. Jest to konieczne, jako, że najnowsze doniesienia z naszego pola badań sugerują jak istotne dla kontroli homeostazy żelaza są oddziaływania komórek między sobą w natywnych mikrośrodkach tkanek.

Planowane badania uwzględniają ich wykonanie na najniższej możliwej liczbie zwierząt, w poszczególnych grupach. Wszystkie procedury w przedstawionym projekcie zostały tak zaplanowane, aby ograniczyć do minimum stres oraz dyskomfort zwierząt.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną¹

- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- ☒ NIE

¹ Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.