

## **Wpływ witaminy D na programowanie epigenetyczne hematopoetycznych komórek progenitorowych CD34<sup>+</sup> pochodzących z ludzkiej krwi pępowinowej**

Układ odpornościowy człowieka chroni go przed drobnoustrojami, które mogą powodować m.in. choroby zakaźne. Komórki tworzące układ odpornościowy, aby spełniać powyższą rolę, muszą wcześniej zostać przeszkolone. Nauka odbywa się podczas hematopoezy, czyli procesu różnicowania zachodzącego w czerwonym szpiku kostnym. W ramach planowanego projektu chcemy zrozumieć w jaki sposób witamina D i receptor witaminy D (VDR) wpływają na proces hematopoezy. Czynniki transkrypcyjny VDR współdziała z innymi czynnikami transkrypcyjnymi takimi jak PU.1 i CEBP $\alpha$  w kształtowaniu epigenomu hematopoetycznych komórek macierzystych i progenitorowych, programuje epigenetycznie te komórki. Procesy programowania określają rodzaj wytwarzanych komórek odpornościowych oraz poziom ich przygotowania do pełnienia swojej funkcji w obronie organizmu. Naszym celem jest zrozumienie, w jaki sposób witamina D i receptor witaminy D przygotowują nasz, ludzki układ odpornościowy, w tym monocyty odporności wrodzonej, do optymalnego funkcjonowania.

Najprostszą i najmniej inwazyjną metodą izolacji krwiotwórczych komórek macierzystych i progenitorowych jest ich izolacja z krwi pępowinowej noworodków, czyli wykorzystanie krwi z łożyska po porodzie. Dzięki współpracy z Katedrą Ginekologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego będziemy mieli dostęp do próbek krwi pępowinowej 40 noworodków oraz próbek krwi ich matek przed porodem. Z obu rodzajów krwi będziemy izolować jednojądrzaste komórki odpornościowe, a z tych dojrzałe monocyty. Na podstawie immunofenotypu i wzoru metylacji DNA wybierzemy 20 par matka-noworodek, których krew będziemy wykorzystywać do dalszych analiz. W kolejnym etapie z pobranych próbek krwi przygotowujemy hematopoetyczne komórki macierzyste i progenitorowe, namnożymy je, a następnie będziemy je różnicować w monocyty. W trakcie procesu różnicowania komórek, prowadzonego przy braku i w obecności metabolitu witaminy D, 1,25-dihydroksywitaminy D<sub>3</sub> (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>), będziemy pobierać próbki do dalszych analiz. Jako punkt odniesienia zbadane zostaną pod kątem ich reakcji na 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> dojrzałe monocyty izolowane od matek i z krwi pępowinowej. Wszystkie próbki zostaną przeanalizowane w kontekście zmian w ich transkryptomie, a także epigenomie (m.in. dostępność chromatyny, aktywna chromatyna - markery H3H27ac, wiązanie VDR, PU.1 i CEBP $\alpha$ ). Uzyskane dane dotyczące całego genomu, pozwolą nam zbudować dla każdego osobnika model procesów regulacyjnych obejmujący tysiące regionów genomu i setki genów. Modele te zostaną porównane z wynikami uzyskanymi podczas wcześniej przeprowadzonego badania interwencyjnego dotyczącego podawania witaminy D 47 zdrowym osobom dorosłym.

Planowane badania umożliwią nam:

- opisanie wpływu witaminy D na proces nauki komórek odpornościowych podczas hematopoezy (programowanie epigenetyczne),
- określenie różnic międzypersonicznych w procesie programowania epigenetycznego, których analiza umożliwi zrozumienie odmiennej reakcji różnych osób na witaminę D,
- zrozumienie mechanizmu modulowania przez witaminę D funkcjonalności wrodzonego układu odpornościowego.

Podsumowując, projekt umożliwi wgląd mechanistyczny w różnice międzypersoniczne w odpowiedzi immunologicznej wyzwalanej witaminą D. Pozwoli to też lepiej zrozumieć, dlaczego suplementacja witaminą D, również w miesiącach letnich, jest tak istotna dla naszego zdrowia.