

Cel prowadzonych badań/hipoteza badawcza

Przewlekłe zapalenie ucha środkowego z perlakiem jest stale dużym problemem terapeutycznym. W trakcie rozwoju perlaka dochodzi do „napełzania” i proliferacji komórek nabłonka rogowaciejącego z przewodu słuchowego zewnętrznego do jamy ucha środkowego, powstania przewlekłego stanu zapalnego w wyniku aktywacji układu immunologicznego. W efekcie dochodzi do zniszczenia struktur ucha środkowego i wewnętrznego prowadząc do utraty słuchu, porażenia nerwu twarzewego, zaburzeń równowagi (dysfunkcja przedsionka), jak również stanowi zagrożenie powikłaniami wewnątrzskroniowymi i wewnątrzczaszkowymi. Przyczyny powstawania i rozwoju perlaka nie są do końca wyjaśnione. Leczeniem z wyboru jest leczenie chirurgiczne. W naszych poprzednich badaniach wykazaliśmy istotną rolę odporności wrodzonej w rozwoju perlaka nabytego ucha środkowego. Nasze badania wstępne wykazały obecność białka HMGB1 i jego receptora RAGE, a także obecność receptorów Toll-podobnych w mikrośrodowisku perlaka.

Obecnie coraz więcej danych wskazuje na kluczową rolę mikropęcherzyków błonowych (ang. extracellular vesicles; EV) w patogenezie przewlekłych stanów zapalnych, ponieważ EV pełnią rolę nośników różnych białek m.in. prozapalnych modulując czynności innych komórek. Biorąc pod uwagę wyniki naszych badań wstępnych wysuwamy hipotezę, że poprzez uwolnienie zawierających HMGB1 mikropęcherzyków z mikrośrodowiska perlaka, rozprzestrzeniających się również systemowo poprzez układ krążenia, dochodzi do rozwoju miejscowego i ogólnego stanu zapalnego. W związku z tym, iż mikropęcherzyki mogą być pobierane na drodze endocytozy przez komórki układu odpornościowego, takie jak makrofagi, ale również przez inne komórki (fibroblasty, śródbłónki naczyń), chcemy ocenić bezpośredni wpływ mikropęcherzykowego HMGB1 (EV-HMGB1) na te komórki w badaniach *in vitro* jak i *ex vivo*. Zakładamy również, że ocena ilości mikropęcherzyków oraz poziomu HMGB1 w surowicy może być markerem stanu zapalnego i korelować z klinicznym zaawansowaniem perlaka lub jego nawrotami.

Metodyka badawcza

Koncepcja niniejszego projektu bazuje na podejściu systemowym, przejawiającym się tym, że rolę EV-HMGB1 będziemy oceniać w 2 komplementarnych platformach doświadczalnych: **1)** w modelu *in vitro* macierzy perlaka na komórkach hodowlanych linii nabłonkowych; **2)** poprzez ocenę materiału biologicznego *ex vivo* uzyskanego od chorych operowanych z powodu perlaka. Pozwoli to na ocenę wpływu EV-HMGB1, którego rola nie została dotychczas zbadana w PZUŚZP. W projekcie planowane jest użycie nowoczesnych technik badawczych, funkcjonalne testy komórkowe *in vitro*, cytometria przepływowa, immunohistochemia,. Ważnym aspektem obecnego projektu jest podejście systemowe, przejawiające się tym, że będziemy badać rolę mikropęcherzykowego HMGB1 nie tylko w warunkach *in vitro*, ale także skorelujemy uzyskane wyniki *ex vivo* obecności HMGB1 i EV ze stanem klinicznym.

Wpływ spodziewanych rezultatów na rozwój nauki

Realizacja zadań badawczych wyszczególnionych w naszym projekcie umożliwi wyjaśnienie zasad działania nowego mechanizmu istotnego w rozwoju perlaka nabytego ucha środkowego, przewlekłego stanu zapalnego z destrukcją kości. Wynikiem wykonania projektu będzie wyjaśnienie potencjalnej przydatności związanego z mikropęcherzykami HMGB1 jako biomarkera. W przyszłości może się to przyczynić do opracowania nowych metod leczniczych lub też udoskonalenia obecnie stosowanych. W trakcie realizacji projektu zacieśniona zostanie współpraca pomiędzy ośrodkami polskimi i amerykańskimi. Jako całość projekt ten przyczyni się do dalszego dynamicznego rozwoju nauki polskiej, jak również ogólnej wiedzy w dziedzinie biologii perlaka nabytego ucha środkowego.