

1. Cel projektu

Komórki siatkówki w warunkach prawidłowych nie proliferują i gdy ulegną uszkodzeniu mogą zostać zastąpione przez komórki z peryferyjnych obszarów siatkówki, które reinicjują cykl komórkowy. Funkcjonowanie tego mechanizmu ma kluczowe znaczenie w patogenezie w zwyrodnieniowych chorobach siatkówki (RDDs), które są zazwyczaj związane z wiekiem. Przedwczesna utrata zdolności do podziałów komórkowych i reinicjacji cyklu komórkowego) indukowana stresem (SISP), wywoływanym przez stres oksydacyjny, indukuje specyficzny fenotyp (SASP). Związane z wiekiem zmiany zwyrodnieniowe w komórkach nabłonka barwnikowego siatkówki (RPE) prowadzą do akumulacji uszkodzonych składników komórkowych, które powinny być usuwane w procesie autofagii. W swoich badaniach oraz badaniach przeprowadzonych w innych ośrodkach stwierdziliśmy, że zaburzenia autofagii odgrywają istotną rolę w patogenezie RDDs. Koaktywator gamma receptora aktywowanego przez proliferatory peroksydomów PGC-1 α bierze udział w obronie antyoksydacyjnej. Celem tego projektu jest określenie roli PGC-1 α w odpowiedzi na przedwczesne starzenie komórkowe indukowane stresem oksydacyjnym w starzejących się komórkach RPE.

2. Badania realizowane w projekcie

Badania zostaną przeprowadzone na komórkach RPE otrzymanych z myszy w różnym wieku z wyłączonym genem *PGC-1a* oraz komórkach RPE otrzymanych przez ukierunkowane różnicowanie indukowanych pluripotentnych komórek macierzystych (iPS) człowieka, w których ekspresja genu *PGC-1a* będzie wyciszana technologią CRISPR/Cas9. W badaniach wstępnych, w których pokazaliśmy udział PGC-1 α w regulacji ekspresji podstawowych białek autofagii, potwierdziliśmy przydatność tych komórek do wykonania planowanych badań. Stres oksydacyjny, przedwczesne starzenie komórki, autofagia i inne zjawiska będą oceniane przez zastosowanie specyficznych markerów i mikromacierzy. Komórki będą otrzymane z myszy w wieku 6 i 12 miesięcy dla oceny wpływu wieku na badane procesy. Analiza danych zostanie przeprowadzona z użyciem oprogramowania specyficznego dla danego zagadnienia oraz ogólnego oprogramowania statystycznego.

3. Powody podjęcia tematyki badawczej

Zwyrodnieniowe choroby siatkówki (RDDs), w tym zwyrodnienie plamki związane z wiekiem (AMD), są chorobami oczu charakteryzującymi się masową utratą komórek RPE i brakiem efektywnej terapii i stanowią one główną przyczyną utraty wzroku w starszej populacji w krajach rozwiniętych. Oprócz wieku, do głównych czynników ryzyka RDDs, należą także stres oksydacyjny, zaburzona autofagia, jak również czynniki genetyczne. Badania nad relacjami pomiędzy starzeniem komórki, starzeniem organizmów i autofagią mogą przynieść wyniki ważne dla biologii molekularnej i biologii w ogóle, ponieważ jest szereg pytań i problemów dotyczących tych relacji. Co więcej, odniesienie tych relacji do warunków patologicznych w RPE dających fenotyp chorobowy, jest ważne dla okulistyki, gdyż RDDs, przede wszystkim AMD, są ważnym elementem globalnego problemu utraty wzroku. Pomimo, że projekt ten dotyczy specyficznego narządu i tkanki, jego wyniki mogą przynieść podstawowe ogólne informacje dotyczące przyczyn starzenia. Autofagia, wyróżniona w zeszłym roku Nagrodą Nobla, wzbudza coraz większe zainteresowanie badaczy, ze względu na udział w wielu procesach na poziomie komórki i organizmu, w tym starzenia i chorobach związanych ze starzeniem, jednakże wiele aspektów tego udziałów jest obecnie nieznanych. Przyjmuje się, że efektywność autofagii, a przynajmniej jej szlaku zależnego od białek pomocniczych, spada wraz z wiekiem i ten efekt może być istotny dla patogenezy chorób zależnych od wieku. Z kolei przyjmuje się, że mitofagia ma zasadnicze znaczenie dla starzenia mitochondrialnego, ale relacja pomiędzy nią a starzeniem organizmów nie jest jasna. Dalej, autofagia i mitofagia są istotne dla starzenia komórki, które z kolei jest ważna dla starzenia organizmu, lecz znów brak jednoznacznych opisów wzajemnych relacji pomiędzy tymi czterema procesami. RDDs są głównym przedstawicielem chorób związanych z wiekiem i jako choroby oczu nie mogą być badane w siatkówkach osób żyjących, wobec czego stworzenie odpowiedniego modelu do badania tych chorób *in vitro* jest uzasadnione.