

## C1. POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU

Zaburzenia endokrynologiczne stają się coraz częściej diagnozowaną jednostką chorobową zarówno w medycynie ludzkiej jak i weterynaryjnej. Wśród koni przekarmianych paszą wysokoenergetyczną i wysokoskrobiową, u których jednocześnie aktywność fizyczna jest znacznie ograniczona, rozwija się syndrom metaboliczny (ang. equine metabolic syndrome, EMS). U osobników takich występuje oporność na insulinę, hyperleptinemia, hiperinsulinemia, chroniczny stan zapalny, akumulacja reaktywnych form tlenu (ROS) i nadmierna produkcja kortyzolu. Dodatkowo, narastający w obrębie tkanki tłuszczowej stan zapalny zaburza jej homeostazę i profil wydzielanych adipokin. Taki stan rzeczy negatywnie wpływa na rezydującą w tkance tłuszczowej populację komórek macierzystych (ang. adipose-derived stem cells, ASC). Ze względu na swoje unikatowe właściwości, takie jak zdolność do różnicowania w inne typy komórek i modulacja odpowiedzi immunologicznej, możliwość ich zastosowania w medycynie regeneracyjnej cieszy się szczególnym zainteresowaniem. Liczne badania przeprowadzane na całym świecie wykazały dobroczynny wpływ komórek ASC w walce z chorobami układu szkieletowego, metabolicznymi i neurodegeneracyjnymi.

Niestety, komórki ASC rezydujące w niesprzyjającym, prozapalnym środowisku tkanki tłuszczowej koni z EMS tracą swój terapeutyczny potencjał. Nasze poprzednie badania wykazały, że ASC<sub>EMS</sub> charakteryzuje obniżone tempo proliferacji, akumulacja czynników komórkowego starzenia się, zwiększona apoptoza i dysfunkcja mitochondriów. Mitochondria to niewielkie struktury znajdujące się w obrębie komórek, których najważniejszą rolą jest wytwarzanie energii magazynowanej pod postacią adenozy-5'-trifosforanu –ATP. W ASC<sub>EMS</sub> zaobserwowano degeneracyjne zmiany w morfologii tych organelli (formacja wakuoli wewnątrz matriks, dezintegracja grzebieni) oraz ich dynamiki (przewaga procesu fizji). Uszkodzenie funkcjonalności mitochondriów prowadzi do zaburzenia homeostazy energetycznej komórek oraz do nadmiernej akumulacji reaktywnych form tlenu. Te z kolei, poprzez oksydację białek i lipidów inicjują proces programowanej śmierci komórkowej- apoptozy.

W prezentowanym projekcie, proponujemy „naprawę” i „odmłodzenie” komórek ASC<sub>EMS</sub> poprzez transfer mitochondriów. Funkcjonalne, nieuszkodzone organelle zostaną najpierw wyizolowane z komórek ASC koni zdrowych, następnie autorską, małoinwazyjną metodą wprowadzone do komórek ASC<sub>EMS</sub>. Oczekujemy, że taki zabieg usprawni metabolizm, przywróci multipotencjalne właściwości i cofnie starzenie się ASC<sub>EMS</sub>. Dodatkowo, chcemy zbadać jak długo introdukowane mitochondria pozostaną obecne w komórkach biorczych i czy pierwotne organelle zostaną wyeliminowane z komórek poprzez proces mitofagii. Dzięki temu odpowiemy na pytanie czy komórki będą preferencyjnie wybierać mitochondria „zdrowe” i być może zbadamy jaki mechanizm odpowiada za ten fenomen. Jest to szczególnie istotne w kontekście najnowszych doniesień naukowych, które postulują, że komórki macierzyste spełniają swoją terapeutyczną rolę *in vivo* poprzez naturalnie zachodzący transfer mitochondriów. Dlatego tak ważna jest kondycja tych organelli w komórkach przeznaczonych do terapii w trosce o jej jak największą efektywność. „Wymiana” uszkodzonych mitochondriów na „zdrowe” w komórkach ASC<sub>EMS</sub> może stać się krokiem milowym w poprawie ich potencjału terapeutycznego oraz opracowania skutecznych metod terapii EMS ale też innych chorób. Oczekujemy, że po transferze mitochondriów, komórki ASC<sub>EMS</sub> odzyskają swoją macierzystość oraz zwiększą ekspresję genów odpowiedzialnych za ich właściwości multipotentne. Ponadto, zakładamy że ilość akumulowanych reaktywnych form tlenu zmaleje, przy jednoczesnym wzroście syntezy białek antyoksydacyjnych. Przede wszystkim, po raz pierwszy zbadany zostanie los i dynamika transferowanych mitochondriów w komórkach biorczych.

W czasach, gdy to autologiczne przeszczepy i terapie komórkowe są wciąż najbardziej preferowane, „ulepszenie” komórek przeznaczonych do terapii, poprzez transfer mitochondriów wydaje się być kuszącą perspektywą. Szczególnie, że stan zdrowia pacjenta istotnie wpływa na potencjał terapeutyczny jego komórek macierzystych. Wiek, choroby metaboliczne, aktywność fizyczna, styl życia czy dieta znacząco wpływają na metabolizm komórek i stan rezydujących w nich organelli. Dlatego, proponowana przez nas metoda może znaleźć szerokie zastosowanie w inżynierii tkankowej, w sytuacji gdy kondycja mitochondriów pacjenta jest niezadowalająca i może w dużym stopniu ograniczyć skuteczność terapii. Ponadto, otrzymane dane stanowiąc będą kamień węgielny do przeprowadzenia badań *in vivo*.