

Komórki śródbłonna wyścielają naczynia krwionośne i decydują o prawidłowym działaniu układu krążenia. Pełnią jednak również inną, bardzo ważną, a mniej znaną funkcję – są ważnym elementem niszy hematopoetycznych w szpiku kostnym. Nisza hematopoetyczna to miejsce w którym przebywają krwiotwórcze komórki macierzyste (HSC). Wiele wskazuje na to, że właśnie nisza decyduje o zachowaniu przez HSC zdolności do odbudowy układu krwiotwórczego i zabezpiecza organizm przed przedwczesnym wyczerpaniem puli HSC.

Mimo bardzo intensywnych badań, **wciąż nie wiadomo jakie komórki budują niszę i jak koordynowana jest ich aktywność**. Komórki HSC są bowiem bardzo rzadkie i trudne do rozpoznania – ich bezpośrednia obserwacja w szpiku stała się możliwa dopiero ostatnio. Wiele dotychczasowych badań wskazywało, że niszę dla komórek HSC tworzą komórki tętniczek i przejściowych kapilar, zbudowanych z nietypowego śródbłonna, tzw. typu H (posiadającego niektóre cechy śródbłonna żylnego i tętniczego), natomiast śródbłonek żylny zatok szpikowych jest odpowiedzialny za kontakt z komórkami aktywowanymi, opuszczającymi szpik. Tymczasem bezpośrednie obserwacje pokazały, że HSC lokalizują się właśnie przy zatokach. *Jak wyjaśnić takie rozbieżności?* Na podstawie naszych wstępnych wyników **sądzimy, że śródbłonek zatok nie jest jednorodny, ale zawiera grupy wyspecjalizowanych, a dotychczas nie poznanych komórek, kontaktujących się bezpośrednio z HSC**, mimo że większość komórek śródbłonna zatok odpowiada za przechodzenie aktywnych komórek ze szpiku do krwi. Celem naszego projektu jest poznanie tych hipotetycznych specjalistów.

W badaniach będziemy wykorzystywać bardzo nowoczesną metodykę – większość analiz będzie wykonywana na pojedynczych komórkach, tak by uwidocznili heterogenność badanej tkanki. Na pojedynczych komórkach będziemy przeprowadzać analizy aktywności wszystkich genów (czyli tzw. profilowanie transkryptomu). Najważniejszym elementem będzie wybranie właściwych komórek do analizy. Zrobimy to dzięki unikatowym i niedawno opracowanym myszom transgenicznym, w których komórki HSC (i jedynie one) świecą na czerwono. Inny szczep myszy zaprojektowano tak, by można było wyłączać wybrane geny lub wprowadzać nowe geny specyficznie do komórek HSC zdrowej myszy (wykonuje się w tym celu zastrzyk). Najciekawsze szczepy myszy powstaną jednak dopiero w trakcie realizacji projektu – zaplanowaliśmy je tak, by na czerwono świeciły w nich komórki do których bezpośrednio przyłączyły się komórki HSC (te z kolei będą świecić na zielono). Dzięki temu będziemy mogli zobaczyć i odsortować te komórki śródbłonna, które rzeczywiście skontaktowały się z HSC. Następnie porównamy profile transkryptomowe komórek, które z HSC oddziaływały i takich samych na pozór komórek z sąsiedztwa, które w kontakt z HSC nie weszły. Analizy bioinformatyczne pozwolą na wskazanie szlaków molekularnych, odpowiedzialnych za interakcję komórek niszy z komórkami macierzystymi. Rzeczywiste znaczenie tych szlaków będziemy następnie sprawdzać w testach funkcjonalnych – albo usuwając wybrane komórki, albo wyłączając w nich wybrane geny. Pozwoli nam to: i) zidentyfikować komórki tworzące niszę hematopoetyczną; ii) poznać szlaki molekularne regulujące działanie niszy, iii) zrozumieć na ile komórki śródbłonna są plastyczne i zdolne do uczenia się nowych funkcji, iv) sprawdzić na ile śródbłonek działa samodzielnie a na ile jest regulowany przez komórki hematopoetyczne i mezenchymalne.

Dzięki zastosowaniu nowych metod badawczych opracowanych w ramach projektu, mamy szansę na uzyskanie informacji do tej pory niedostępnych, które są kluczowe dla zrozumienia działania komórek macierzystych w szpiku. Od tego „który to śródbłonek” zależy nie tylko poznanie podstawowych mechanizmów biologicznych, ale także zrozumienie jakimi lekami można będzie wpływać na komórki HSC tak, by skutecznie pobrać je do przeszczepienia, bez aktywacji innych komórek szpiku. Można też będzie zaproponować metody przygotowania pacjenta do przeszczepienia HSC, pozwalające na uniknięcie naświetlania uszkadzającego szpik.