

Aktywność i znaczenie obocznych dróg glikolitycznej przemiany glukozy w odpowiedzi na zmianę warunków tlenowych w długotrwałych hodowlach komórkowych AD-MSC

Terapie z zastosowaniem komórek macierzystych (KM) stanowią jeden z głównych nurtów współczesnej medycyny regeneracyjnej, ciągle znajdującej się w fazie eksperymentu medycznego. Podejmowane liczne próby kliniczne, potwierdzają skuteczność i bezpieczeństwo przeszczepiania somatycznych jak i płodowych KM. Dotychczasowe badania wskazują jednak na potrzebę cyklicznego podawania komórek w celu podtrzymania uzyskanego efektu terapeutycznego. Pomimo wieloletniego doświadczenia i ciągle rozwijającej się wiedzy w zakresie hodowli komórkowych, nadal nie wypracowano optymalnych i wystandaryzowanych procedur obejmujących izolację, ekspansję, krioprezerwację i przygotowanie przeszczepu. Wciąż aktualnym pozostaje problemem starzenie się komórek podczas hodowli *in vitro*, przejawiający się spowolnieniem podziałów komórkowych, obniżeniem ich właściwości immunomodulacyjnych i protekcyjnych, a także brakiem stabilności genetycznej, a więc parametrów decydujących o skuteczności i bezpieczeństwie aplikacji klinicznej. Aktualna literatura, jak również nasze dotychczasowe badania, wykazują, że jednym z kluczowych parametrów utrzymujących komórki na wymaganym terapeutycznie poziomie zróżnicowania, proliferacji i sekrecji cytokin/chemokin i czynników wzrostowych, jest prowadzenie hodowli w warunkach obniżonego stężenia tlenu.

W oparciu o powyższe informacje, w proponowanym projekcie będziemy prowadzić badania mające na celu optymalizację warunków hodowli mezenchymalnych komórek macierzystych izolowanych z tkanki tłuszczowej (hAD-MSC). Badania obejmą szczegółową charakterystykę porównawczą podstawowych cech funkcjonalnych tych komórek podczas długoterminowej hodowli prowadzonej w warunkach fizjologicznego (5%) i atmosferycznego (21%) stężenia tlenu.

Nowatorskim aspektem proponowanych badań będzie próba wyjaśnienia na poziomie molekularnym mechanizmu wiążącego szlaki metaboliczne regulujące proliferację, rozwój i różnicowanie hAD-MSC z procesami przemiany glukozy aktywowanymi w trakcie hodowli w warunkach obniżonego stężenia tlenu. Do szczególnie istotnych punktów kontrolujących powyższe procesy można zaliczyć dwie reakcje kontrolujące przejście na oboczne (**konkurencyjne dla glikolizy**) drogi przemian glukozy od jej głównego szlaku dominującego w niezróżnicowanych i szybko proliferujących komórkach. Reakcjami kontrolującymi przepływ glukozy przez te szlaki są enzymy G6P-dehydrogenaza (G6PDH) i phospho-fructo-kinaza-2 (PFK2), kontrolujące wykorzystanie pośrednich produktów glikolizy w przemianach alternatywnych. Te „oboczne” drogi przemiany glukozy **PPP** i **FBP** prowadzą między innymi do syntezy metabolitów determinujących takie podstawowe funkcje komórek jak proliferacja i wzrost, osłona anty-wolnorodnikowa, stopień zróżnicowania i stabilność fenotypowa oraz genetyczna komórek hodowlanych.

Wyniki powstałe w czasie realizacji projektu dostarczą nam informacji o mechanizmie i charakterze powiązań pomiędzy badanymi szlakami przemiany glukozy a rozwojem, proliferacją i bezpieczeństwem onkologicznym somatycznych komórek macierzystych rosnących w warunkach niskiego stężenia tlenu, na przykładzie hodowli AD-MSC. Badania te umożliwią również lepsze poznanie oraz ściślejsze określenie molekularnego podłoża zaobserwowanych zmian funkcjonalnych, regulowanych dostępem tlenu i czasem trwania hodowli. Rozwiązanie tych zagadnień poszerzy naszą wiedzę dotyczącą wpływu mechanizmów kontrolujących kluczowe procesy metaboliczne na utrzymanie korzystnego terapeutycznie fenotypu MSC, charakteryzującego się wysokim tempem proliferacji przy jednoczesnym zachowaniu stabilności funkcjonalnej i genetycznej w czasie długoterminowej hodowli w środowisku obniżonego stężenia tlenu.