

Badanie zdolności do różnicowania się i transdiferencjacji świńskich jajnikowych komórek pęcherzykowych w warunkach hodowli *in vitro*.

W dojrzałym pęcherzyku jajnikowym wyróżnia się kilka populacji komórek. Komórki osłonki pęcherzyka – *theca cells* (TCs), wśród których wyróżniamy warstwę zewnętrzną i wewnętrzną, stanowią najbardziej zewnętrzną warstwę ściany pęcherzyka jajnikowego. Największą populacją jajnikowych komórek pęcherzykowych stanowią komórki ziarniste – *mural granulosa cells* (GCs) – wypełniające wnętrze pęcherzyka jajnikowego oraz stanowiące warstwę otaczającą oocyt – *cumulus cells* (CCs) budującą wzgórek jajonośny oraz wieniec promienisty (łac. *corona radiata*). Każda z wymienionych populacji komórek ziarnistych spełnia swoją określoną rolę w pęcherzyku jajnikowym. Komórki ziarniste pęcherzyka jajnikowego cieszą się coraz większym zainteresowaniem wśród naukowców ze względu na drzemiący w nich potencjał komórek macierzystych zdolnych do różnicowania się.

Badania kilku ostatnich lat dotyczące analizy właściwości macierzystych ludzkich jajnikowych komórek ziarnistych udowodniły między innymi, że komórki te posiadają cechy potencjał komórek macierzystych. W licznych danych literaturowych podkreśla się, iż komórki ziarniste, pochodzące od kobiet skierowanych do zapłodnienia pozaustrojowego, wypełniające wnętrze pęcherzyka, wykazują ekspresję markerów molekularnych charakterystycznych dla mezenchymalnych komórek macierzystych (ang. mesenchymal stem cells, MSCs), jak; CD29, CD44, CD105, CD90, a także pluripotencjalnych komórek macierzystych (OCT-4, NANOG, SOX2, TERT). Potencjał macierzysty ludzkich komórek ziarnistych jest zagadnieniem dość dobrze rozpoznany w literaturze. Liczne publikacje wskazują, że komórki te mogą różnicować się do osteoblastów, chondrocytów, co jest potwierdzeniem posiadania właściwości mezenchymalnych tych komórek.

Mniej poznane są natomiast właściwości macierzyste komórek GCs czy TCs pochodzących od świń. Głównym celem projektu jest badanie właściwości sekrecyjnych oraz identyfikacja markerów macierzystości komórek ziarnistych, oraz komórek osłonki tekalnej (ang. theca cells, TCs) izolowanych z pęcherzyków jajnikowych świń w warunkach hodowli pierwotnej, a także zbadanie ich zdolności do różnicowania się w kierunku komórek z 3 listków zarodkowych: ektodermy (neuronowe komórki), mezodermy (osteoblasty, chondroblasty, adipocyty, kardiomiocyty, komórki mięśni szkieletowych, komórki śródbłonna naczyń) oraz endodermy (hepatocyty, komórki wysp trzustki). Dodatkowo, wykorzystując techniki hodowli 3D zbadana zostanie zdolność tworzenia sferoidów i interakcje pomiędzy poszczególnymi typami komórek. Założony cel zostanie zrealizowany poprzez hodowlę poszczególnych typów komórek pęcherzykowych w medium podstawowym i medium zawierającym czynniki różnicujące. Ocena właściwości sekrecyjnych powyższych komórek wykonana zostanie z wykorzystaniem analizy proteomicznej/metabolomicznej (spektrometria masowa) komórek. Jak dotąd nie odpowiedziano na pytanie czy świńskie komórki TCs oraz komórki GCs posiadają potencjał komórek macierzystych. Ponadto, nie badano czy komórki GCs oraz TCs spełniają odmienne funkcje w pęcherzyku jajnikowym mogą różnicować się w kierunku komórek z wyżej wymienionych listków zarodkowych. Tym samym zidentyfikowane czynniki indukujące procesy różnicowania się mogą posłużyć jako suplementy w trakcie procedur wykorzystywanych w medycynie regeneracyjnej. Jednocześnie prezentowane badania dostarczą zupełnie nowych informacji (przede wszystkim wyselekcjonowane zostaną markery molekularne a także stworzone biblioteki danych), dzięki którym możliwa będzie identyfikacja procesu różnicowania się komórek GCs, TCs w kierunku komórek z trzech listków zarodkowych. Szerokim polem do zastosowania świńskich komórek macierzystych może okazać się terapia choćby chorób neurodegeneracyjnych ludzi, jak i zwierząt, ale także szeroko rozumiane choroby cywilizacyjne. Pozytywne wyniki analiz komórkowych (cytometria przepływowa), molekularnych (RNAseq) oraz proteomicznych i metabolomicznych (LCMS/MS) potwierdzające obecność zróżnicowanych populacji komórek różnych typów mogą wskazać na zupełnie nowe właściwości komórek pęcherzykowych, jako narzędzia terapeutycznego w medycynie regeneracyjnej.