

Przewlekłe choroby układu oddechowego są najczęstszymi schorzeniami na świecie, są też szóstą przyczyną zgonów w skali świata. Miliony ludzi cierpi na astmę, przewlekłą obturacyjną chorobę płuc, mukowiscydozę i choroby nowotworowe płuca. W krajach uprzemysłowionych i rozwijających się choroby układu oddechowego stanowią wyzwanie dla zdrowia publicznego ze względu na ich częstotliwość, nasilenie oraz skutki gospodarcze. Jest oczywiste, że palenie, infekcje i sylwetka genetyczna są odpowiedzialne za większość chorób dróg oddechowych. Niestety, podłoże molekularne tych schorzeń jest nadal poznane tylko częściowo.

Oskrzela wyściela nabłonek wielorzędowy migawkowy zbudowany z wyspecjalizowanych komórek. Nabłonek ten odgrywa aktywną rolę w obronie dróg oddechowych, chroniąc je przed infekcjami i uszkodzeniami wywołanymi przez zanieczyszczenia środowiskowe. Utrzymanie prawidłowej struktury nabłonka oskrzeli ma zasadnicze znaczenie dla prawidłowego funkcjonowania płuc. Jednak wiedza o mechanizmach molekularnych regulujących homeostazę nabłonka dróg oddechowych jest wciąż niepełna. Dlatego też istnieje potrzeba prowadzenia kompleksowych badań, które doprowadzą nas do zrozumienia biologii komórek nabłonka oskrzeli oraz nabłonka górnych dróg oddechowych, co potencjalnie przybliży nas do ostatecznego celu jakim jest skuteczne leczenie chorób układu oddechowego człowieka.

Białka szoku cieplnego (ang. *Heat Shock Proteins*, HSP) stanowią liczną grupę wysoce konserwowanych ewolucyjnie białek opiekuńczych uznawanych za główny składnik systemu kontroli jakości białek komórkowych. Białka HSP biorą udział w modulowaniu wielu procesów komórkowych i fizjologicznych. W kontekście nabłonka oskrzeli, wiedza o funkcjach białek HSP jest ograniczona – do tej pory poznano funkcje tylko kilku przedstawicieli tej rodziny powiązane z wydzielaniem śluz w nabłonku dróg oddechowych oraz z ochroną komórek oskrzeli przed toksycznymi zanieczyszczeniami we wdychanym powietrzu. W naszych poprzednich badaniach pokazaliśmy jako pierwsi, że w nabłonku oskrzeli, a także w innych typach nabłoneków wielowarstwowych (naskórek, nabłonek przełyku, szyjki macicy) obecne jest białko HSPA2, będące jednym ze słabiej poznanych przedstawicieli białek HSP. Biorąc pod uwagę powszechną obecność HSPA2 w komórkach nabłonkowych, kuszące jest wysunięcie przypuszczenia, że może ono być wyjątkowym przykładem białka opiekuńczego związanego z utrzymywaniem homeostazy w nabłonekach wielorzędowych i wielowarstwowych. Wyniki naszych ostatnich badań ujawniły, że białko HSPA2 jest zaangażowane w kontrolowanie różnicowania komórek podstawnych w naskórku, będącym przykładem nabłonka wielowarstwowego. Dlatego przyjęliśmy hipotezę, że HSPA2 może odgrywać rolę białka opiekuńczego pełniącego uniwersalne funkcje w regulacji różnicowania komórek nabłonkowych, w tym także nabłonka oskrzeli.

Celem naszego projektu jest wykazanie biologicznej roli białka HSPA2 w ludzkich komórkach nabłonka oskrzeli. Zamierzamy również zbadać, czy białko HSPA2 w komórkach nabłonka oskrzeli odgrywa swoistą rolę lub czy jego aktywność jest redundantna z aktywnością innych podobnych białek z rodziny HSPA. W szczególności sprawdzimy, czy funkcje HSPA2 mogą zostać zastąpione aktywnością cytoprotekcyjnego białka HSPA1, które jest syntetyzowane konstytutywnie w komórkach nabłonka oskrzeli. Za pomocą narzędzi współczesnej biologii molekularnej, a także technik inżynierii komórkowej i tkankowej skonstruujemy model do badań *in vitro*, który umożliwi nam zbadanie czy, i w jakim stopniu białko HSPA2 oraz HSPA1 mogą wpływać na fenotyp ludzkich komórek nabłonka oskrzeli. Wprowadzając odpowiednie modyfikacje genetyczne otrzymamy komórki nabłonka oskrzeli pozbawione genów kodujących badane białka HSPA. Następnie zbadamy czy niedobór białka HSPA2 lub HSPA1 wpłynie na zdolność komórek do: 1) wzrostu i podziałów; 2) tworzenia kolonii; 3) ruchu; 4) przylegania do różnych składników macierzy zewnątrzkomórkowej. Ocenę znaczenia badanych białek dla utrzymania homeostazy nabłonka oskrzeli zbadamy stosując zaawansowany system hodowli komórek *in vitro* na granicy faz powietrze-ciecz. System ten umożliwia komórkom nabłonka oskrzeli odtworzenie przestrzennej organizacji typowej dla nabłonka wielorzędowego zbudowanego z komórek podstawnych, komórek orzęsionych oraz produkujących śluz komórek kubkowych. Ponadto, tkankę odtworzoną *in vitro* cechuje prawidłowo rozwinięta funkcja bariery przed środowiskiem zewnętrznym.

Niniejszy projekt jest w pełni oryginalny i pionierski. Realizacja planowanych badań pozwoli na ujawnienie nieznannej dotychczas roli HSPA2 jako białka opiekuńczego o uniwersalnym znaczeniu dla kontrolowania procesów homeostatycznych w komórkach nabłonka wielorzędowego oskrzeli. Poszerzenie wiedzy o molekularnych podstawach procesów fizjologicznych zachodzących w komórkach uwarstwionych nabłoneków ma olbrzymie znaczenie kliniczne. Zaburzenia podziałów komórek nabłonkowych oraz nieprawidłowości ich różnicowania mogą prowadzić do chorób układu oddechowego, w tym astmy, przewlekłej obturacyjnej choroby płuc, mukowiscydozy, chorób zwłóknieniowych oraz raka płuca.