

## **Pęcherzyki zewnątrzkomórkowe jako mediatory komunikacji międzykomórkowej w organizmie eksponowanym na mikroplastik PET - badania multi-omiczne na modelu świni domowej**

Tworzywa sztuczne pojawiły się ponad 100 lat temu, a ze względu na wygodę i trend w ich stosowaniu rozprzestrzeniły się na całym świecie w rolnictwie, przemyśle, a przede wszystkim w naszym codziennym życiu. Na całym świecie zużycie tworzyw sztucznych rośnie z roku na rok, a aktualne dane wskazują, że ich produkcja w 2019 roku przekroczyła 368 mln ton. Biorąc pod uwagę szacunkowe tempo wzrostu populacji na świecie, a także obecne nawyki konsumpcyjne oraz te związane z odpadami, przewiduje się, że produkcja tworzyw sztucznych wzrośnie czterokrotnie do 2050 r. Należy zwrócić uwagę, że wytwarzane odpady nie są usuwane we właściwy sposób i stanowią jedną z najszybciej zwiększającej się części odpadów komunalnych. Wśród odpadów plastikowych szczególne obawy budzą cząsteczki mikroplastiku (MP) mniejsze niż 5 mm, głównie ze względu na ich długą trwałość w środowisku, niewielkie rozmiary oraz zdolność do wnikania do komórek i wywoływania niekorzystnych skutków. Mikroplastik został wykryty m. in. w wodzie pitnej – butelkowanej i kranowej, piwie, soli stołowej, miodzie, cukrze, mleku i konserwach, szminkach, paście do zębów, suplementach zdrowotnych i materiałach do pakowania żywności, a także w powietrzu. Wykazano, że spożywanie mikroplastiku prowadzi do jego akumulacji w wątrobie, nerkach, jelitach i mózgu z objawami stresu oksydacyjnego, zaburzeń równowagi energetycznej, neurotoksyczności i zaburzeń behawioralnych.

W ostatnich latach coraz częściej podkreślana jest rola pęcherzyków zewnątrzkomórkowych jako istotnych czynników w komunikacji międzykomórkowej oraz utrzymaniu równowagi fizjologicznej, a także w rozwoju procesów chorobowych. Pęcherzyki zewnątrzkomórkowe to małe, kuliste struktury biologiczne, posiadające dwuwarstwową błonę lipidową. Są one uwalniane przez wszystkie typy komórek do przestrzeni pozakomórkowej i są wyposażone w białka, lipidy, RNA oraz miRNA. Wykazano, że pęcherzyki zewnątrzkomórkowe odgrywają ważną rolę w wielu stanach patologicznych, w tym w chorobach sercowo-naczyniowych, progresji nowotworów i przerzutach, a także w chorobach autoimmunologicznych i neurodegeneracyjnych. Ponadto, pęcherzyki zewnątrzkomórkowe służą również jako mechanizmy eliminacji toksycznych/niepotrzebnych elementów z komórki, co sugeruje ich rolę w utrzymaniu homeostazy międzykomórkowej.

Celem proponowanych badań jest analiza wpływu mikroplastiku politereftalan etylenu – PET (jednego z najczęściej stosowanych tworzyw sztucznych) na zawartość pęcherzyków zewnątrzkomórkowych wyizolowanych z płynów ustrojowych (krew, żółć i mocz) oraz profil transkryptomiczny, proteomiczny i metabolomiczny tkanek (wątroby, nerek), które są głównym źródłem pęcherzyków zewnątrzkomórkowych w żółci i moczu. Określona zostanie również zawartość cząsteczek plastiku w pęcherzykach. Doświadczenie zostanie przeprowadzone na niedojrzałych płciowo loszkach, podzielonych na trzy grupy: 1) grupa kontrolna; 2) grupa doświadczalna otrzymująca doustnie małą dawkę mikroplastiku PET; 3) grupa doświadczalna otrzymująca doustnie dużą dawkę mikroplastiku PET. Wyniki wstępnych badań wykazały, że miRNA obecne w pęcherzykach zewnątrzkomórkowych wyizolowanych z surowicy prosiąt otrzymujących doustnie mikroplastik PET, mogą regulować geny zaangażowane w proces nowotworzenia w trzustce. Dlatego w proponowanym projekcie zaplanowano zbadanie w warunkach *in vitro* wpływu tych pęcherzyków (a bardziej ich zawartości) na profil transkryptomiczny komórek trzustki uzyskanych od zwierząt, które nie otrzymywały mikroplastiku doustnie. Uzyskane wyniki dostarczą nowych i cennych danych na temat możliwego wpływu mikroplastiku na różne funkcje biologiczne. Wykorzystanie wysokoprzepustowych metod takich jak RNA-Seq/Small RNA-Seq do analizy transkryptomu oraz chromatografii cieczowej/tandemowej spektrometrii mas (LC-MS/MS) do analizy proteomu i metabolomu, dostarczy istotnych danych na temat ekspresji genów, białek i metabolitów związanych z odpowiedzią organizmu na mikroplastik.