

Rola trofoblastu w modulacji procesów pro-fibrotycznych w endometrium klaczy: nowe spojrzenie na mechanizmy leżące u podstaw tego zjawiska.

Zwłóknienie endometrium, definiowane jako patologiczne nagromadzenie składników macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM), głównie kolagenów, które prowadzi do upośledzenia funkcji narządu, stanowi istotną przyczynę niepłodności u klaczy. Pomimo dobrze udokumentowanego znaczenia klinicznego tego zjawiska, molekularne mechanizmy leżące u podstaw zmian zwłóknieniowych pozostają słabo poznane. Najnowsze badania wskazują na czynniki takie jak TGF- β 1, IL-33 oraz hormon luteinizujący (LH), jako powodujące różnice w ekspresji genów pomiędzy włókniejącym a zdrowym endometrium. Ponadto wykazano, że makrofagi M2a wpływają na skład macierzy zewnątrzkomórkowej, stan zapalny oraz ekspresję mikroRNA (miRNA) związanych ze zwłóknieniem w endometrium. Co istotne, te same czynniki —TGF- β 1, IL-33 oraz markery makrofagów CD14 i CD68—są obecne w podwyższonych ilościach w obrębie interfejsu maczyno-płodowego we wczesnej ciąży, równoległe z aktywacją szlaku sygnałowego IL-4, który również odgrywa rolę w procesach zwłóknieniowych. Klacze są zwykle kryte corocznie, od 3 do około 20 roku życia, a ciąża trwa około 11 miesięcy. Dlatego też ich endometrium przez znaczną część życia reprodukcyjnego pozostaje pod wpływem sygnałów trofoblastu. Pomimo tego, potencjalny związek między aktywnością trofoblastu a rozwojem zwłóknienia pozostaje niezbadany.

Celem niniejszego projektu jest zatem ocena, czy sygnalizacja trofoblastu przyczynia się do rozwoju zwłóknienia endometrium u klaczy. W szczególności planowane są następujące działania:

1. Charakterystyka trofoblastu konia oraz jego sekretomu z wykorzystaniem technologii przestrzennego sekwencjonowania pojedynczych komórek (spatial sequencing at single cell resolution, scRNA-seq, co wypełni istniejącą lukę w danych. Dotychczas dostępne są jedynie analizy trofoblastu konia typu „bulk”, gdzie mierzone są średnie ekspresje genów w dużej populacji komórek, natomiast spatial scRNA-seq kwantyfikuje transkryptom pojedynczych komórek z zachowaniem informacji o jej położeniu
2. Identyfikacja i walidacja interakcji między trofoblastem a endometrium, ze szczególnym uwzględnieniem miRNA oraz szlaków sygnałowych związanych ze zwłóknieniem.
3. Porównanie profili komórkowych i molekularnych endometrium klaczy wieloródek i nieródek w celu oceny, czy wcześniejsze ciążę predysponują do rozwoju środowiska pro zwłóknieniowego.
4. Ocena wpływu różnego składu populacji komórek endometrium (np. fibroblastów, makrofagów) na odpowiedź tkanki na sygnały pochodzące od trofoblastu w warunkach *in vitro*, co może pozwolić na identyfikację komórek inicjujących przebudowę zwłóknieniową.

Projekt łączy badania *in vivo* i *in vitro* oraz wykorzystuje nowoczesne techniki, takie jak przestrzenna transkryptomika jednokomórkowa, sekwencjonowanie RNA oraz proteomika LC-MS. Będzie to pierwsze badanie analizujące wpływ sygnalizacji trofoblastu na profil miRNA w endometrium klaczy, co dostarczy nowych danych na temat regulacji posttranskrypcyjnej we wczesnej ciąży.

Klacje stanowią unikalny model badawczy, ponieważ spontanicznie rozwijają zwłóknienie endometrium i podobnie jak kobiety wydzielają gonadotropinę kosmówkową (CG) podczas ciąży, czego nie obserwuje się u gryzoni. Choć zwłóknienie może być częściowo naturalną konsekwencją wielokrotnych ciąż, zrozumienie jego molekularnych podstaw jest kluczowe dla opracowania terapii, które zapobiegają patologicznym zmianom bez zakłócania fizjologicznych mechanizmów implantacji i utrzymania ciąży. Dodatkowo wyniki uzyskane w projekcie pozwolą odkryć nowe interakcje pomiędzy trofoblastem a endometrium, pogłębić zrozumienie mechanizmów utraty płodności u koni oraz wniosą istotny wkład do badań nad zdrowiem macicy, także u innych gatunków. W połączeniu z wynikami poprzedniego projektu, uzyskane dane umożliwią stworzenie atlasu komórkowego interfejsu maczyno-płodowego u klaczy we wczesnej ciąży, co będzie stanowić bazę dla przyszłych badań nie tylko w kontekście zwłóknienia.