

Opracowanie hybrydowego modelu bioreaktora kapilarnego do badania wpływu zmiennego stężenia glukozy na metabolizm oraz stres oksydacyjny w komórkach śródbłonna

Kierownik projektu: Prof. nadzw. Piotr Ładyżyński

1. Cel prowadzonych badań

Badanie rozwoju chorób i ich wpływu na funkcjonowanie organizmu człowieka przyczynia się do powstania doskonalszych metod leczenia. Badania takie można przeprowadzać „w probówce” (*in vitro*), z użyciem modeli wykorzystujących komórki ludzkie i naśladujących warunki panujące w organizmie człowieka. Jednym z takich modeli jest model naczynia krwionośnego z komórkami śródbłonna (KŚ), które w ludzkim organizmie wyściełają pojedynczą warstwę wewnętrzną powierzchnię serca, żył i tętnic. KŚ kontrolują transport różnych cząsteczek pomiędzy krwią a tkankami oraz wydzielają substancje niezbędne do prawidłowego działania organizmu. KŚ są łatwo pobudliwe i szybko odpowiadają na bodźce. Badanie odpowiedzi KŚ na te bodźce przyczynia się do lepszego zrozumienia rozwoju wielu chorób, w tym cukrzycy, na którą choruje ponad 400 mln ludzi i która prowadzi do licznych powikłań m. in. ślepoty, zawału serca czy udaru mózgu. Powikłania te wywoływane są przez długotrwały wysoki poziom cukru we krwi, co sprzyja powstawaniu wolnych rodników i nieprawidłowemu funkcjonowaniu KŚ. Wyniki badań *in vitro* wykazują większy niekorzystny wpływ zmienności stężenia cukru niż jego stale podwyższonej wartości na funkcjonowanie KŚ, ale wyniki badań wpływu zmienności poziomu cukru we krwi na zwiększenie ryzyka powikłań cukrzycy u pacjentów nie są jednoznaczne. Wspomniane badania *in vitro* prowadzono w warunkach odbiegających od tych, panujących w organizmie. Wewnątrz naczyń krwionośnych na KŚ działa siła powodowana przepływem krwi, która ma istotny wpływ na kształt i funkcjonowanie KŚ. Wnioskodawca opracował metodę osadzania oraz hodowli KŚ w specjalnym urządzeniu (bioreaktorze) na wewnętrznej powierzchni cienkich rurek (kapilar), wykonanych z półprzepuszczalnego tworzywa sztucznego, budową naśladujących żyłę lub tętnicę. W bioreaktorze, jak wewnątrz żył, na KŚ działa siła wytwarzana przez przepływ płynu hodowlanego zastępującego krew.

Celem projektu jest opracowanie modelu do badania wpływu zmiennego stężenia cukru na funkcjonowanie KŚ. Opracowany model, dzięki zastosowaniu przepływu płynu hodowlanego, odtworzy wpływ siły działającej na KŚ. W celu jeszcze lepszego odwzorowania budowy naczynia krwionośnego, model ten zostanie udoskonalony poprzez osadzenie komórek mięśnia gładkiego (KMG) na powierzchni zewnętrznej kapilar.

2. Zastosowana metoda badawcza

Do tej pory opracowano i zweryfikowano w warunkach laboratoryjnych metody: (1) wykonania i przygotowania bioreaktora do osadzania komórek, (2) wprowadzenia KŚ do bioreaktora i ich osadzenia na wewnętrznej powierzchni kapilar, (3) zapewnienia najlepszych z możliwych warunków hodowli KŚ, umożliwiających wielodniowe utrzymywanie KŚ przy życiu. Opracowane i sprawdzone metody osadzania KŚ i ich hodowli w bioreaktorze zapewniają jednolite pokrycie powierzchni wewnętrznych kapilar komórkami. Opracowano wstępnie metodę jednoczesnego wprowadzania i osadzania KŚ na wewnętrznych powierzchniach kapilar i KMG na ich zewnętrznych powierzchniach. Metoda ta wymaga dopracowania w celu osiągnięcia pełnego pokrycia kapilar przez KMG. Potwierdzono możliwość hodowania osobno KŚ i KMG w probówce w nieruchomym płynie hodowlanym, zawierającym cukier w stałym lub zmieniającym się stężeniu. W ramach projektu, zostanie opracowany i połączony z bioreaktorem system automatycznego sterowania przepływem i regulowania stężenia cukru, pozwalając na naśladowanie normalnego, stałego podwyższonego oraz zmieniającego się w ciągu dnia stężenia cukru. Opracowany model zostanie wykorzystany do określenia, w jakim stopniu poziom i wahania stężenia cukru wpływają na funkcje i przeżycie KŚ. W tym celu zostanie przeprowadzony cykl doświadczeń, umożliwiających analizę stężenia substancji wydzielanych przez KŚ lub na nie oddziałujących, które świadczą o ich kondycji i zachodzących w nich procesach. Ponadto planuje się zbadanie skuteczności stosowania wybranych leków na zmniejszenie niekorzystnego wpływu cukru na KŚ.

3. Wpływ spodziewanych rezultatów na rozwój nauki

Określenie wpływu wahań stężenia cukru na procesy prowadzące do zmian w naczyniach krwionośnych ułatwi znalezienie najlepszego sposobu leczenia cukrzycy i może doprowadzić do znacznego spowolnienia rozwoju jej powikłań, przyczyniając się do wydłużenia czasu życia w zdrowiu wśród osób z cukrzycą. Wyniki projektu mogą również stanowić podstawę do wyjaśnienia mechanizmów rozwoju powikłań cukrzycy i w dalszej perspektywie przyczynić się do wynalezienia skutecznych metod ich leczenia. **Opracowany w ramach tego projektu model naczynia krwionośnego może zostać w przyszłości wykorzystany do kontynuacji badań nad cukrzycą i jej późnymi powikłaniami. Ponadto, opracowany model można łatwo dostosować do badania wpływu stężenia i zmienności poziomu innych substancji na KŚ, a tym samym umożliwić badanie innych chorób wpływających na KŚ (np. miażdżycy, udaru mózgu, przewlekłej niewydolności nerek, wzrostu guzów nowotworowych, przerzutów raka, zakrzepicy żył) oraz badanie działania leków.**