

Imię i nazwisko autora pracy: Mateusz Sikora

Tytuł pracy: Rola i znaczenie małych niekodujących cząsteczek RNA w przebiegu regeneracji tkanki kostnej o znamionach osteoporozy starczej na przykładzie miRNA-21-5p

Dziedzina nauki: Nauki Ścisłe i Przyrodnicze

Dyscyplina: Nauki Biologiczne

Data sporządzenia streszczenia: 01.09.2023 r.

Słowa kluczowe: osteoporoza, tkanka kostna, medycyna regeneracyjna, złamania kości, BMSCs, miRNA, miR-21

Osteoporoza starcza jest najczęstszą chorobą kości występującą u pacjentów w podeszłym wieku. Zachorowalność na osteoporozę starczą rośnie w dramatycznym tempie ze względu na postępujące starzenie się społeczeństw. Co więcej, specjaliści szacują, że w ciągu kolejnych 50 lat osteoporoza osiągnie skalę światowej epidemii, a obecne metody leczenia są niewystarczające. Rozwój osteoporozy starczej związany jest z zaburzeniem równowagi między aktywnością komórek kościotwórczych i kościogubnych, a także z pogorszeniem potencjału regeneracyjnego szpikowych komórek macierzystych (BMSCs). Z tego powodu, poszukiwane są nowe metody terapeutyczne, których celem jest odtworzenie homeostazy w obrębie tkanki kostnej oraz przywrócenie potencjału regeneracyjnego komórek pacjenta. Przykładem takich terapii, są strategie oparte o wykorzystanie małych niekodujących RNA (miRNA) - zarówno jako narzędzi jak i celów terapeutycznych. Dotychczas przebadano szeroką gamę cząsteczek miRNA, do których należy miR-21-5p. Udowodniono, że cząsteczka miR-21-5p może odgrywać istotną rolę w przebudowie tkanki kostnej, ale nie zbadano dotychczas jej wpływu na mechanizmy molekularne zaangażowane w regulację aktywności komórek kościotwórczych i kościogubnych oraz utrzymanie wysokiej aktywności proliferacyjnej i metabolicznej komórek o fenotypie starczym.

Celem pracy doktorskiej było zatem zbadanie roli cząsteczki miR-21-5p w regulacji aktywności komórek tkanki kostnej o charakterze starczym w kontekście projektowania terapii celowanych ukierunkowanych na przywrócenie potencjału regeneracyjnego pacjentów chorujących na osteoporozę starczą.

Badania w ramach pracy doktorskiej zostały przeprowadzone z wykorzystaniem modelowych linii komórkowych MC3T3-E1, 4B12 oraz BMSCs izolowanych z myszy

zdrowych szczepu BALB/c i unikalnego modelu myszy osteoporotycznych szczepu SAM/P6. Badania obejmowały analizy *in vitro*, *ex vivo*, a także *in vivo*. W trakcie badań za pomocą technik biologii molekularnej oceniono zaangażowanie cząsteczki miR-21-5p w kształtowaniu aktywności proliferacyjnej, metabolicznej i regeneracyjnej komórek. Kluczowym elementem badań było wskazanie szlaków molekularnych modulujących kościotwórczy potencjał komórek. Szczególną uwagę poświęcono szlakom RANKL/OPG/RANK oraz RUNX-2/TRAP. Ekspresję mRNA i miRNA analizowano przy pomocy techniki RT qPCR, a akumulację białek za pomocą techniki Western Blot. Aktywność metaboliczną określano z wykorzystaniem technik opartych o cytometrię przepływową, a morfologię i ultrastrukturę komórek oceniano za pomocą mikroskopii konfokalnej, elektronowej mikroskopii skaningowej (SEM) oraz technik immunocytochemicznych (ICC).

Wyniki prowadzonych badań wykazały istotny wpływ cząsteczki miR-21-5p na aktywność komórek kościotwórczych i kościogubnych. Cząsteczka miR 21-5p brała czynny udział w regulacji potencjału wydzielniczego komórek kościotwórczych oraz w dojrzewaniu komórek kościogubnych poprzez szlak RANKL/OPG/RANK. Jednocześnie potwierdzono, że BMSCs izolowane od myszy osteoporotycznych szczepu SAM/P6 charakteryzowały się upośledzonym potencjałem regeneracyjnym i zaburzonymi procesami metabolicznymi. Wykazano jednak, że cząsteczka miR-21-5p może być czynnikiem wzmagającym potencjał regeneracyjny BMSCs o fenotypie starczym. Komórki BMSCSAM/P6 poddane działaniu miR-21-5p charakteryzowały się przywróconą zdolnością do tworzenia wysoko zmineralizowanej macierzy zewnątrzkomórkowej w warunkach *ex vivo* i *in vivo*. Dodatkowo zaobserwowano, że pod wpływem zwiększenia ekspresji miR-21-5p, komórki izolowane od myszy osteoporotycznych przejawiały istotne zmiany w aktywności metabolicznej i w dynamice sieci mitochondrialnej. Zwiększona ekspresja miR-21-5p w BMSCs korelowała ze zwiększoną ekspresją cząsteczek odpowiedzialnych za kościotworzenie (RUNX, OPG, miR-7a-5p) oraz z obniżeniem ilości transkryptów powiązanych z resorpcją tkanki kostnej (TRAP, CTSK, miR 17 5p).

Badania zaprezentowane w ramach pracy doktorskiej wykazały, że cząsteczka miR-21-5p posiada wysoki potencjał terapeutyczny i może znaleźć zastosowanie w projektowaniu efektywnych terapii celowanych, ukierunkowanych na leczenie osteoporozy starczej i zależnej od niej złamań kości.