

PATKÁNYVÉKONYBÉL-HÁMSEJT MITOKONDRIUMOK FUNKCIONÁLIS VIZSGÁLATA

Szerző: **TERHES Emil**, IV. évfolyam (terhesemil@yahoo.com);

PÁLFI Alexandra, VI. évfolyam;

Delia GIOVANNIELLO, III. évfolyam;

PIGNICZKI Daniella, IV. évfolyam

Témavezető: **Dr. MÉSZÁROS András**, egyetemi tanársegéd;

Dr. JUHÁSZ László és **Dr. POLES Marietta** kutató biológusok

Intézmény: Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Sebészeti Műtéttani Intézet, Szeged

Bevezetés: A vékonybél különösen érzékeny a vérrellátási zavarok következtében fellépő szöveti hipoxiára. A hámsejt-mitokondriumok állapota döntően befolyásolhatja az energetikailag rendkívül aktív epithelium funkcióit, de e sejtorganellumok működéséről ennek ellenére nagyon kevés ismerettel rendelkezünk. Ennek egyik fő oka, hogy jelenleg nincs olyan validált mintavételi és vizsgálati eljárás, ami a sejteket nem károsítja. Célunk egy reprodukálható módszer kidolgozása volt, amivel az egészséges és kóros bélszakaszokból származó minták mitokondriális funkciói standardizálhatóan vizsgálhatók.

Módszerek: Hím Sprague-Dawley patkányok duodenum, jejunum és ileum mintáit Ca^{2+} és Mg^{2+} ionokkal kelátot képző vegyszerekkel inkubáltuk. Megvizsgáltuk, hogy miként befolyásolják a nyert sejtek mennyiségét, minőségét és respirációs tulajdonságait a kelátorok, a hőmérséklet valamint az inkubációs oldatok egyéb tényezői. Az ún. organoid sejt kultúra módszerével nyert mintákat nagyfelbontású respirometria (Oroboros Oxygraph-2k, Innsbruck, Austria) és fénymikroszkóp segítségével vizsgáltuk.

Eredmények: EGTA kelátor és foszfát-puffer alapú oldattal, 30+30 perc $4^{\circ}C$ -on történő inkubálás után az epithelium nagy, összefüggő lemezeit tartalmazó mintákat nyertünk, melyek stabil mitokondriális funkcióval (rutin respirációs jellemzőkkel) bírtak, más, főként különálló sejteket eredményező izolációs eljárásokhoz képest.

Összefoglalás: Eredményeink szerint a vékonybél epithelium különálló sejtekre történő izolálása közben olyan mértékben sérül a sejtek működése, ami lehetetlenné teszi a megbízható respirometriás méréseket. Ezzel szemben módszerünkkel jól működő, jó minőségű sejtek nyerhetők, melyek alkalmasak nagyfelbontású respirometriai mérésekre is.

Támogatás: NKFIH K120232, Új Nemzeti Kiválóság Program (P.A.)

Kulcsszavak: mitokondrium, vékonybél, epithelium, nagyfelbontású respirometria

ASSESSMENT OF MITOCHONDRIAL FUNCTION IN RAT SMALL INTESTINAL EPITHELIAL CELLS

Authors: Emil TERHES, fourth-year student (terhesemil@yahoo.com);

Alexandra PÁLFI, sixth-year student;

Delia GIOVANIELLO, third-year;

Daniella PIGNICZKI, fourth-year medical student

Supervisors: Dr. András MÉSZÁROS assistant professor;

Dr. László JUHÁSZ, researcher biologist;

Dr. Marietta POLES, researcher biologist

Institution: University of Szeged, Faculty of Medicine, Institute of Surgical Research, Szeged, Hungary

Introduction: The small intestine is particularly sensitive to tissue hypoxia due to perfusion failure. Function of the energetically highly active epithelium is profoundly influenced by the state of mitochondria. Despite their decisive role, we have very little knowledge about the function of these organelles. One of the main reasons for the lack of information is that there are no validated sample processing and measurement methods available without damaging the cells. Therefore, we aimed to develop a cell isolation procedure to determine mitochondrial function from both healthy and damaged intestinal segments in a standardized way.

Methods: Duodenum, jejunum, and ileum samples of male Sprague-Dawley rats were incubated with chelators of Ca^{2+} and Mg^{2+} . We examined how quantity, quality, and respiration properties of cells were affected by chelators, temperature and other factors of incubation media. Subsequently, samples prepared according to organoid cell culture methods were analysed with high resolution respirometry (Oroboros Oxygraph-2k, Innsbruck, Austria) and light microscopy.

Results: Big, continuous layers of epithelium were collected after 30+30 minutes of incubation of small intestinal samples at $+4^{\circ}\text{C}$ with EGTA chelating agent and phosphate-buffer based solution. The samples displayed stable mitochondrial function (routine respiration) in contrast to other isolating methods producing mainly single cells.

Summary: According to our results, complete isolation of epithelial layer to single cells leads to critical damage of cell function, making respirometry measurements unreliable. However, with our improved method, epithelial samples with satisfying function and quality can be collected for high resolution respirometry measurements.

Grant support: NKFIH K120232, New Hungarian National Excellence Program (A.P.)

Keywords: mitochondria, small intestine, epithelium, high resolution respirometry