

POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU

Encefalopatia wątrobowa (EW) to schorzenie neuropsychiatryczne, występujące wskutek nagłego, jak i przewlekłego, uszkodzenia wątroby. Wątroba, która odpowiada m.in. za usuwanie szkodliwych substancji z organizmu staje się niewydolna, a gromadzące się we krwi toksyny, w szczególności amoniak, przedostają się do mózgu, prowadząc obok wielu innych komplikacji, m. in. do jego obrzęku. Obrzęk mózgu jest głównym i często śmiertelnym powikłaniem choroby. Obok amoniaku, współwystępujący systemowy i/lub pojawiający się w mózgu stan zapalny, przyczynia się do pogłębienia większości objawów EW. Wspomniany obrzęk mózgu jest najpoważniejszą komplikacją kliniczną diagnozowaną w przebiegu EW zarówno fazy ostrej, jak i przewlekłych, gdzie dochodzi do okresowych zaostrzeń. Obrzęk mózgu zachodzi przy silnym udziale czynnika naczyniowego, wynikającego z zaburzenia przepuszczalności bariery krew-mózg (BBB), złożonej struktury, która tworząc swoistą zaporę uniemożliwiająca przedostawanie się toksycznych substancji z krwioobiegu, chroni jego środowisko. Liczba współgrających struktur i czynników zapewniających prawidłowe działanie BBB jest znaczna. Dzieli się je na najczęściej uwzględniane - poziome połączenia ściśle między komórkami śródbłonna wraz z białkami adhezyjnymi, i dotąd prawie zupełnie pomijane - pionowe śródbłonkowe i astrocytarne białka receptorowe macierzy zewnątrzkomórkowej. Wiedza dotycząca wpływu EW na zmiany w budowie i funkcji BBB jest niepełna, szczególnie jeżeli dotyczy oddziaływań między komórkami śródbłonna, astrocytami, perycytami, a substancją między nimi, określaną terminem macierzy zewnątrzkomórkowej.

Coraz częściej przebieg wielu procesów fizjologicznych i patologicznych wiąże się z obecnością mikroRNA, krótkich niekodujących regulatorów cząsteczek RNA (18-24 nukleotydów), które wpływając na aktywność ściśle określonych fragmentów RNA, regulują ekspresję genów. Rola miRNA w kontekście uszkodzenia BBB, w odniesieniu do EW pozostaje problemem niewyjaśnionym.

W projekcie chcemy przeprowadzić analizę zmian ekspresji i funkcji białek wchodzących w skład poziomych, a w szczególności, pionowych składowych BBB w EW, dalej określić zmiany ekspresji miRNA, potencjalnie mogących regulować ich funkcje, jednocześnie wpływających na pojawianie się zapalenia, następnie sprawdzić, czy zaburzenia BBB w EW związane są ze zmienioną ekspresją wybranych miRNA, wpływając na regulację funkcjonowania BBB.

Doświadczenia wykonamy wykorzystując: (1) szczurzy model ostrej EW, w jego wariantach różniących się stopniem obrzęku mózgu i uszkodzenia BBB (2) modele *in vitro*, wykorzystując komórkowe hodowle jednorodne i mieszane, odzwierciedlające zależności między komórkami wchodzącymi w skład BBB (unieśmiertelniona linia komórek śródbłonna mózgu szczura (RBE4)- i/lub hodowle pierwotne komórek śródbłonna mózgu szczura w obecności/lub nie astrocytów/perycytów). Do komórek śródbłonna metodą transfekcji zostaną wprowadzone sekwencje mimikowych miRNA (mimic-miRNA)-podwyższających lub anty-miRNA-obniżających ekspresję wybranych na podstawie wcześniej przeprowadzonych analiz, miRNA. W ten sposób zbadamy wpływ odpowiednich, znanych miRNA na strukturę i funkcję poszczególnych elementów BBB.

Wiadomo, że miRNA są stosunkowo stabilne i łatwo wykrywalne w osoczu, dlatego odstępstwa od normalnego poziomu miRNA, związane z etapami i stopniem uszkodzenia BBB u pacjentów, mogą czynić je skutecznymi i nieinwazyjnymi biomarkerami, pozwalającymi na odpowiednio skuteczne rozpoznanie uszkodzenia, i być może w przyszłości szybką interwencją farmakologiczną.