

Choroba niedokrwienna serca jest główną przyczyną śmiertelności na całym świecie. W samej Europie schorzenie to odpowiada co roku za śmierć 1.8 miliona ludzi, co stanowi blisko 20% wszystkich odnotowanych na tym kontynencie zgonów. Głównym symptomem tej choroby jest atak serca, który w rezultacie może prowadzić do niewydolności organu. W czasie ataku serca duża liczba komórek budujących ten mięsień (kardiomiocytów) zostaje nieodwracalnie utracona. W przypadku pacjentów, którzy przeżyli atak serca, masowa śmierć kardiomiocytów indukuje stan zapalny w czasie, którego aktywowane są mechanizmy naprawcze. Niestety, serce dorosłego człowieka wykazuje bardzo małe możliwości regeneracyjne, a aktywowane mechanizmy naprawcze indukują rekrutację i aktywację fibroblastów, komórek odpowiedzialnych za produkcję macierzy zewnątrzkomórkowej i kolagenu. Prowadzi to do zastąpienia utraconego miokardium bogatą w kolagen tkanką bliznowatą. Pomimo tego, że powstała blizna stabilizuje ranę, to równocześnie osłabia ona pracę serca z powodu niekorzystnego wpływu na jego kurczliwość. Niezdolność serca do odbudowania puli utraconych komórek prowadzi w dłuższej perspektywie do nieodwracalnej niewydolności tego organu. Jak dotąd jedynym, skutecznym sposobem leczenia niewydolności serca jest jego przeszczep, jednak poszukiwane są również nowe, alternatywne metody. Jednym z rozwiązań jest zidentyfikowanie występujących w przyrodzie przykładów wydajnej regeneracji narządów oraz wnikliwe zbadanie mechanizmów leżących u jej podstaw. Zdobyta w ten sposób wiedza może być wykorzystana w leczeniu niewydolności serca u ludzi, poprzez zastosowanie odpowiednich bodźców regeneracyjnych. W przeciwieństwie do ssaków, niższe kręgowce w tym danio pręgwanym (*Danio rerio*) posiadają niezwykłą zdolność do regeneracji uszkodzonego serca. Danio pręgwanym może w pełni zregenerować swoje serce po uszkodzeniu do 20% jego komory. Po urazie obszar rany zostaje uszczelniony skrzepem krwi, który po upływie 7-9 dni jest stopniowo zastępowany nowymi kardiomiocytami. Po dwóch miesiącach wielkość i kształt komory, jak również zdolność narządu do pompowania krwi, powracają do stanu sprzed urazu. U danio pręgowanego nowe kardiomiocyty powstają z komórek serca, które są już wyróżnicowane (wyspecjalizowane). Przeprowadzone badania wykazały, że białka regulujące rozwój serca w okresie embrionalnym odgrywają również istotną rolę w procesach regeneracyjnych. Wiodącą rolę w regulacji odbudowy uszkodzonego miokardium odgrywają Hand2 i Gata4, należące do rodziny białek odpowiedzialnych za „włączanie” ekspresji genów zaangażowanych w różne procesy biologiczne. Niemniej jednak nasze rozumienie tego, w jaki sposób Hand2 i Gata4 regulują proces regeneracji serca pozostaje nadal w znacznym stopniu niekompletne, ponieważ wiele genów kontrolowanych przez te białka nie zostało jeszcze zidentyfikowanych.

Trudności w wyjaśnieniu procesów biologicznych wynikają głównie z ich bardzo złożonej natury – liczne czynniki genetyczne oddziałują ze sobą na różnych etapach rozwoju, w różnych lokalizacjach subkomórkowych. Z tego powodu uważamy, że w badaniu procesów biologicznych konieczne jest zastosowanie podejścia umożliwiającego równoczesną analizę wielu czynników. W związku z tym proponujemy scharakteryzowanie procesu regeneracji serca u danio pręgowanego poprzez zastosowanie metodologii genomiki, która pozwala na obserwowanie różnych oddziaływań biologicznych, zachodzących w tym samym czasie. W naszym projekcie proponujemy wykorzystanie technologii sekwencjonowania nowej generacji (*ang.* NGS). W celu zidentyfikowania genów, których ekspresja w komórkach pochodzących z uszkodzonego, jak i regenerującego się serca, regulowana jest przez Hand2 i Gata4 zastosujemy technikę immunoprecypitacji chromatyny w połączeniu z NGS (*ang.* ChIP-seq). Analizy przeprowadzone zostaną dla czterech punktów czasowych: kilkanaście godzin po uszkodzeniu serca, kiedy procesy regeneracyjne są jeszcze słabo zaindukowane, 7 i 14 dni po uszkodzeniu, gdy regeneracja jest znacząca oraz 2 miesiące po uszkodzeniu, kiedy mięsień sercowy jest już w pełni odbudowany. W celu realizacji proponowanego projektu, wygenerujemy linie danio pręgowanego, które będą produkowały białka Hand2 i Gata4 z przyłączonym krótkim peptydem, co ułatwi ich „wyłowienie” z lizatu komórkowego. Następnie porównamy zidentyfikowane geny zaangażowane w proces regeneracji u dorosłych osobników danio pręgowanego, które są celami naszych czynników transkrypcyjnych, z genami zaangażowanymi w rozwój serca ryby w okresie embrionalnym oraz danymi uzyskanymi z badań prowadzonych na regenerujących się sercach nowonarodzonych myszy.

Nasze badania stanowią rewolucyjne podejście do tematu regeneracji i pozwolą na szczegółową analizę molekularnych mechanizmów kontrolujących odbudowę serca. Poznanie miejsc wiązania Hand2 i Gata4 w obrębie całego genomu oraz identyfikacja aktywowanych elementów regulatorowych (wzmacniaczy transkrypcji) pozwoli na poznanie celów tych czynników transkrypcyjnych oraz wyjaśnienie sieci genów regulujących niezwykle wydajną regenerację serca u dorosłych osobników danio pręgowanego. Zrozumienie, w jaki sposób organizm ten odbudowuje uszkodzony organ pozwoli nam zbliżyć się do rozwoju potencjalnych terapii w leczeniu uszkodzonego serca ludzkiego poprzez dostarczenie zidentyfikowanych u niego bodźców regeneracyjnych. Zdobyta wiedza będzie miała ogromne znaczenie ponieważ pilnie potrzebne są terapie, które umożliwią przeżycie pacjentów po zawale serca, pozwolą na wymianę uszkodzonego miokardium i pełną rekonwalescencję po przebytej chorobie.