

## **Rola ścieżki sygnałowej z udziałem kinazy sfingozyny/sfingozyno-1-fosforanu w mózgach myszy z cukrzycą typu II oraz po diecie wysokotłuszczowej. Poszukiwanie potencjalnego neuroprotektoryjnego oddziaływania fingolimodu oraz metforminy**

Cukrzyca typu II (CTII) jest przewlekłą chorobą metaboliczną, w której obserwuje się podwyższony poziom cukru we krwi wynikający ze słabego działania lub nieprawidłowego wydzielania hormonu peptydowego - insuliny przez komórki  $\beta$  trzustki. Za powstawanie CTII oraz otyłości mogą odpowiadać takie czynniki, jak: zmiany w stylu życia, brak aktywności fizycznej, nieprawidłowa dieta (np. o wysokiej zawartości tłuszczu). Zarówno CTII oraz otyłość niosą za sobą zarówno skutki społeczne jak i ekonomiczne. Dane epidemiologiczne dotyczące CTII są niepokojące. Pomiędzy 1980-2014 rokiem, liczba zachorowań osób dorosłych na cukrzycę wzrosła czterokrotnie. Ponadto, wykazano, że CTII wraz z jej powikłaniami może zwiększać ryzyko zachorowań na: choroby układu sercowo-naczyniowego, choroby neurodegeneracyjne w tym chorobę Alzheimera (ChA) oraz przyczyniać się do zaburzeń funkcji poznawczych. Niestety patomechanizm CTII do dnia dzisiejszego nie został jeszcze dokładnie poznany.

Badania ostatnich lat wskazują na istotną rolę zaburzeń ścieżek sygnałowych zależnych od bioaktywnych sfingolipidów do których należą ceramid i sfingozyno-1-fosforan (S1P) w wielu patologiach, takich jak: ChA, stwardnienie rozsiane oraz udary niedokrwienne. Dodatkowo wykazano, że nadmierny wzrost poziomu proapoptotycznego ceramidu może indukować apoptozę neuronów zależną od mitochondriów, nasilać stres oksydacyjny oraz prowadzić do zaburzenia równowagi pomiędzy ceramidem a pro-życiowym S1P. Zarówno w otyłości jak i w CTII obserwuje się podwyższone poziomy toksycznych ceramidów. Ponadto, zaobserwowano, że wysoki poziom ceramidów może wpływać na wzrost insulinooporności - jednej z głównych cech charakteryzujących CTII. Do dnia dzisiejszego nie wykazano jednak, jak CTII oraz otyłość wywołana dietą wysokotłuszczową (dWT) wpływa na przekaźnictwo sygnału przy udziale S1P w mózgu. Dlatego też **celem prowadzonych badań będzie poznanie roli ścieżki sygnałowej z udziałem kinazy sfingozyny/S1P w mózgach myszy z cukrzycą typu II oraz po diecie wysokotłuszczowej.** Dodatkowo zbadany zostanie wpływ fingolimodu (FTY720, który jest modulatorem receptorów dla S1P) oraz metforminy (MET, która jest lekiem pierwszego wyboru w leczeniu CTII) na zmiany w ekspresji wybranych genów oraz białek. Ponadto, oceniane będą zmiany ultrastrukturalne powstałe w mózgu w wyniku CTII oraz dWT.

W niniejszym projekcie zostanie użyty myszy model CTII wywołany poprzez zastosowanie diety wysokotłuszczowej wraz z podaniem niskich dawek streptozotocyny. W użytym modelu zbadane zostaną wybrane części mózgu myszy (kora, hipokamp), w których przy pomocy metod molekularno-biochemicznych zostaną oznaczone geny i białka odpowiedzialne za: powstawanie i działanie S1P; ochronę przed stresem oksydacyjnym, odpowiedź zapalną, transport i przekaźnictwo zależne od glukozy i insuliny, powstawanie peptydu amyloidu- $\beta$  oraz fosforylację białka Tau. W tym celu użyte zostaną następujące metody: łańcuchowa reakcja polimerazy w czasie rzeczywistym (analiza ekspresji genu, real-time PCR), immunochemiczne (detekcja białek, western-blot); chemiluminescencyjne (oznaczanie aktywności wybranych białek). Dodatkowo wykonane zostaną badania ultrastruktury mające na celu zobrazowanie zmian zachodzących w mitochondriach i połączeniach synaptycznych w mózgu na skutek CTII, otyłości wywołanej dWT oraz po zastosowaniu FTY720 i MET. W ramach realizacji projektu wykonane zostaną wybrane testy behawioralne mające na celu ocenę zachowań poznawczych.

CTII oraz otyłość stanowią poważny problem kliniczny, jak i ekonomiczno-społeczny. Co roku liczba osób cierpiących na CTII oraz jej powikłania zaczyna przyrastać w niepokojącym tempie, natomiast patomechanizm zmian powstających w mózgu w wyniku tej choroby nie został jeszcze dokładnie poznany. Uzyskane wyniki w większym stopniu pomogą zrozumieć rolę ścieżki sygnałowej z udziałem kinazy sfingozyny/S1P w patomechanizmie CTII w mózgu. Dodatkowo, wyniki z badań dostarczą nam informacji o zmianach w metabolizmie i przekaźnictwie sygnału zależnym od S1P w mózgach myszy spożywających dWT. Przypuszczamy również, że modyfikacja przekaźnictwa S1P wpłynie na zmniejszenie stresu oksydacyjnego, jak również przyczyni się do obniżenia powstawania peptydu amyloidu- $\beta$  oraz zmniejszenia fosforylację białka Tau.