

Jeżeli sam chorujesz lub masz w rodzinie kogoś chorego na nieswoiste zapalenia jelit (NZJ), takie jak wrzodziejące zapalenie jelita grubego czy chorobę Leśniowskiego-Crohn'a (LC), to wiesz, że jest to przewlekła choroba której objawy można jedynie zaleczyć, ale nie wyleczyć. NZJ, a szczególnie choroba LC występują u osób młodych (po 20 roku życia), i są tak trudne w leczeniu, ponieważ do końca nie wiemy jakie są ich przyczyny. Wiemy natomiast, że jednym z objawów towarzyszących są zwłóknienia, które mogą prowadzić do zwężania światła jelita i ich niedrożności. Taka komplikacja wymaga chirurgicznej interwencji i poszerzenia zwężonego miejsca często kilka razy w ciągu życia pacjenta. Dlatego, nowa wiedza w temacie przeciwdziałania zwłóknieniom jelit może przynieść korzyści pacjentom z NZJ, szczególnie z CD.

Zwłóknienie nie pojawia się nagle, ale jest to szereg rozciągniętych w czasie i występujących równocześnie procesów obejmujących nadmierną proliferację komórek jelita, przebudowę macierzy zewnątrzkomórkowej, nadmierną aktywację układu immunologicznego czy zwiększone wydzielanie cytokin prozapalnych. Dwa ostatnie procesy są przyczyną stresu oksydacyjnego, który może prowadzić do uszkodzeń DNA i przedwczesnego starzenia komórek jelita tzw. senescencji, co przyspiesza rozwój NZJ. Dlatego identyfikacja przyczyn zwłóknienia jelita ma duży potencjał diagnostyczny i terapeutyczny. W naszym przekonaniu czynnik transkrypcyjny Nrf2 może być potencjalnym kandydatem w leczeniu NZJ.

Nasze ostatnie badania pokazały, że czynnik transkrypcyjny Nrf2 może mieć istotne znaczenie w przebiegu NZJ, szczególnie w chorobie LC. U myszy pozbawionych aktywnego transkrypcyjnie Nrf2 obserwujemy znaczne zmiany w długości i budowie jelita grubego. Zmiany te obserwowane są już u 4 dniowych osesków, sugerując znaczną rolę Nrf2 w rozwoju jelit. Co ciekawe, widzimy że myszy pozbawione aktywnego transkrypcyjnie Nrf2 nie rozwijają NZJ, pomimo obecnych cechy zwłóknienia i senescencji zaraz po urodzeniu. Dlatego uważamy, że czynnik transkrypcyjny Nrf2 jest ważny w rozwoju NZJ i chcemy zbadać jakie są mechanizmy tej ochrony. Nasze wyniki pokazały zwiększoną ekspresję IL-10, która hamuje rozwój NZJ, u myszy pozbawionych Nrf2. Dlatego sugerujemy, że brak Nrf2 może zwiększać wydzielanie IL-10, co chroni przed NZJ.

Do realizacji naszego celu wykorzystamy dwa modele mysie. Pierwszy to myszy pozbawione aktywnego transkrypcyjnie Nrf2 (Nrf2 tKO), a drugi to myszy pozbawione IL-10, które spontanicznie rozwijają NZJ. W obu przypadkach kontrolą będą myszy dzikie z niezmienioną ekspresją Nrf2 czy IL-10. Nasze badania pokazały, że zmiany w morfologii jelita u myszy pozbawionych Nrf2 przypominają zmiany obserwowane u pacjentów z chorobą LC, u których odnotowuje się zwłóknienie, zwiększenie przepuszczalności błony komórkowej komórek nabłonka jelitowego i występowanie zwężeń. Jednak u myszy Nrf2 tKO nie dochodzi do rozwoju choroby pomimo podobnego obrazu klinicznego. Na tej podstawie przypuszczamy, że Nrf2 odgrywa istotną rolę w modulowaniu rozwoju NZJ, a brak aktywności transkrypcyjnej Nrf2 może zapobiegać rozwojowi choroby. Dlatego w pierwszym zadaniu zbadamy, dlaczego myszy Nrf2 tKO mają zmienioną morfologię jelita grubego wynikającą z upośledzonej produkcji składników macierzy zewnątrzkomórkowej, jaka jest etiologia tych zmian i w jakim stopniu zmiany te przypominają te obserwowane w przebiegu NZJ. Skupimy się na trzech mechanizmach, które mogą być przyczyną obserwowanych zmian w morfologii jelita czyli zwłóknieniu, senescencji i stresie oksydacyjnym. Następnie zbadamy, dlaczego Nrf2 tKO prowadzi do obrzęku jelita grubego badając resorpcję zwrotną wody, przepuszczalność nabłonka i zatrzymywanie wody w jelicie. Na tym etapie badań wykorzystamy techniki biologii molekularnej, metody biochemiczne i analizy histologiczne, które pozwolą nam porównać badane parametry i wskazać podobieństwa/różnice w obu genotypach.

Zaskakującym jest fakt, że mimo tak dużych zmian w morfologii jelita, myszy Nrf2 tKO rozwijają się i funkcjonują tak jak ich dzicy rówieśnicy. Zakładamy zatem, że prawidłowe funkcjonowanie jelita grubego jest niezależne od Nrf2. Zbadamy to wykorzystując testy funkcjonalne takie jak test szybkości wydalania niewchłanianego barwnika oraz odpowiedź mięśniówki jelita na bodźce pobudzające. Ponieważ obserwowane zmiany morfotyczne u myszy Nrf2 tKO są obecne u 4 dniowych osesków, zakładamy, że Nrf2 w znacznym stopniu reguluje proces tworzenia jelit w czasie rozwoju zarodkowego. Dlatego w kolejnym zadaniu zbadamy wpływ Nrf2 na rozwój jelit w życiu płodowym z uwzględnieniem szlaku Notch.

Ostatecznie spróbujemy określić jaki jest mechanizm protekcyjnego działania Nrf2. Nasze badania sugerują, że Nrf2 tKO związany jest ze zwiększeniem poziomu przeciwzapalnej IL-10. Dotychczas prowadzono kilka prób klinicznych z wykorzystaniem IL-10 w leczeniu NZJ, jednak bez jednoznacznych rezultatów. Niemniej, wiadomo, że niedobór IL-10 prowadzi do spontanicznego rozwoju NZJ, a badania pokazują, że Nrf2 może pełnić funkcję regulatora IL-10. Dlatego sugerujemy, że niedobór Nrf2 może wpływać ochronnie na rozwój NZJ poprzez zmianę wydzielania IL-10. Hipotezę tą zweryfikujemy korzystając z hodowli organoidów izolowanych z jelita grubego od myszy pozbawionych Nrf2 i dzikich.

Jesteśmy przekonani, że w efekcie prowadzonych badań lepiej poznamy mechanizmy towarzyszące rozwojowi i progresji NZJ, co pozwoli w przyszłości opracować skuteczniejsze leki na tą grupę chorób, a w szczególności dla chorych na chorobę Leśniowskiego-Crohna, której etiologia pozostaje niewyjaśniona, a dostępne obecnie leczenie jedynie spowalnia rozwój choroby.