

Zależność między składem molekularnym pęcherzyków zewnątrzkomórkowych śródbłonna i beta trzustki a ich rolą w cukrzycowej dysfunkcji śródbłonna - wpływ na właściwości błony komórek docelowych

Jest to interdyscyplinarny projekt badający rolę uwolnionych nano- i mikrofragmentów błon komórkowych w dysfunkcji naczyń krwionośnych spowodowanej cukrzycą. Nano- i mikrofragmenty błon komórkowych zwane również pęcherzykami zewnątrzkomórkowymi (EV) są klasyfikowane według ich różnic w wielkości (średnicy) i mechanizmie ich powstawania: egzosomy (Ex) o średnicy od 30 do 100 nm, również ektosomy nazwane mikrocząsteczki (MV) o średnicy od 100 nm do 1 μ m i ciała apoptotyczne (AB) o rozmiarach od 1 do 5 μ m. Są on uwalniane przez różne komórki, takie jak komórki krwi, komórki śródbłonna (komórki wyściełające naczynia krwionośne), komórki gruczołowe lub nowotworowe i wiele innych. EV są obecne we wszystkich płynach ustrojowych, w tym we krwi, moczu, ślinie, płynie owodniowym, a nawet łzach. Mogą przenosić wiele biomolekuł, takich jak białka, lipidy, krótkie fragmenty kwasów nukleinowych (głównie RNA). W tym projekcie chcemy zbadać zawartość lipidów i białek EV wytwarzanych przez hiperglikemiczne komórki śródbłonkowe i trzustkowe.

Hiperglikemia jest stanem, w którym stężenie glukozy (prostego cukru) przekracza normalny poziom. W warunkach laboratoryjnych (in vitro) możemy stosować hiperglikemię, gdy stężenie glukozy wynosi 25 mM w porównaniu do warunków normoglikemicznych, gdy stężenie glukozy wynosi 5 mM. W sytuacji klinicznej hiperglikemię obserwuje się u pacjentów z cukrzycą lub nietolerancją glukozy. Cukrzyca jest bardzo niebezpieczną i podstępą chorobą. W Polsce prawie 10% populacji cierpi na cukrzycę (około 3 mln osób), jedna trzecia z nich nie wie o swojej chorobie, ponieważ nigdy nie była badana. Normalne stężenie cukru we krwi wynosi około 1 łyżeczki u przeciętnego mężczyzny. U pacjentów z nietolerancją glukozy stężenie cukru we krwi może przekroczyć poziom 7 mM lub nawet więcej. Utrzymujący się podwyższony poziom glukozy we krwi prowadzi do toksyczności glukozy, która przyczynia się do dysfunkcji komórek śródbłonna (ECD) i chorób pogrupowanych, jako powikłania cukrzycowe.

W stresie, warunki hiperglikemiczne, komórki śródbłonna mogą uwalniać więcej EV i tych o różnej zawartości molekularnej, w tym o zmienionym składzie lipidów i ładunku białka. Za pomocą współczesnych metod, w tym spektrometrii mas (spektrometria mas wtórnych jonów - SIMS, spektrometria mas - MS) i rutynowych metod biochemicznych, planujemy oszacować zawartość lipidów na pojedynczym poziomie EV. Takie podejście wymaga użycia bardzo czułego i wysokiej rozdzielczości oprzyrządowania, a SIMS doskonale pasuje do tej analizy. Zmieniona zawartość lipidów wpływa także na organizację lipidów błonowych, co chcemy również zbadać za pomocą bardzo nowatorskiego podejścia: spektroskopii czasu życia positronium (PALS). Jest to technika, która pozwala nam wykazać różnice w organizacji lipidów w EV.

Mechanizmy internalizacji EV do komórek śródbłonna i ich wpływ na ECD zostaną zbadane za pomocą nowatorskiej techniki mikroskopii fluorescencyjnej o wysokiej rozdzielczości o nazwie STED (Stimulated Emission Depletion). Ta technika nagrodzona Nagrodą Nobla w dziedzinie chemii w 2014 r. pozwoli nam zbadać, w jaki sposób EV mogą wchodzić do komórek śródbłonna. Wpływ EV na komórki śródbłonna będzie badany jako zmiany płynności błony komórkowej, powodując ich dysfunkcję przez możliwe interakcje lipid-białko i kanał w dystrybucji kanałów jonowych lub reaktywności. W tej części nasze badania będą obejmować metody elektrofizjologiczne na poziomie komórkowym.

Jesteśmy interdyscyplinarną grupą profesjonalistów kierowaną przez prof. Ewę Łucję Stępień z Zakładu Fizyki Medycznej Instytutu Fizyki im. Mariana Smoluchowskiego na Uniwersytecie Jagiellońskim w Krakowie i jesteśmy bardzo oddani takim badaniom.

<http://mvs.if.uj.edu.pl/>