

Udar mózgu jest zaburzeniem neurologicznym, który w wyniku ograniczenia dopływu krwi do mózgu, prowadzi do wystąpienia nagłych, globalnych jak i ogniskowych, naczyniopochodnych zaburzeń mózgu w skutek obumierania tkanki mózgowej. Ze względu na odmienne objawy kliniczne, udar mózgu można podzielić na udar krwotoczny (UKM) oraz niedokrwienny (UNM), dotyczący 80-90% przypadków. Według danych WHO, udary mózgu stanowią drugą najczęstszą przyczynę zgonów na świecie, a wobec postępującego zjawiska starzenia się społeczeństwa, należy spodziewać się wzrastającej liczby chorych w najbliższej przyszłości. Co więcej, udary mózgu są jedną z głównych przyczyn niepełnosprawności. Ubytki neurologiczne prowadzące do zaburzenia procesów motorycznych, intelektualnych i emocjonalnych znacząco obniżają jakość życia co ma wymiar nie tylko medyczny, ale także społeczny i ekonomiczny.

W patogenezie UNM, główną rolę przypisuje się postępującemu procesowi miażdżycowemu. Akumulacja związków tłuszczowych w ścianie tętnicy prowadzi do stanu zapalnego śródbłonna, a wydzielanie mediatorów zapalnych powoduje rekrutację komórek krwi obwodowej, doprowadzając do odkładania i oderwania blaszki miażdżycowej i zablokowania naczynia krwionośnego. Istotną rolę w tym procesie odgrywiają płytki krwi, które w wyniku interakcji ze śródbłonkiem mobilizują leukocyty do migracji w kierunku tworzącej się blaszki miażdżycowej wpływając na jej powiększanie się oraz destabilizację.

Badania zaplanowane w projekcie mają na celu przeprowadzenie porównawczej analizy białkowego profilu płytek krwi i ekspresji transkryptów płytkowego mRNA w grupie pacjentów ze zdiagnozowanym UNM, w porównaniu z grupą ochotników, u których nie występują zaburzenia ze strony układu sercowo-naczyniowego. Wyniki otrzymane z zaplanowanych eksperymentów mają na celu wyjaśnienie molekularnych zmian zachodzących w płytkach krwi od pacjentów z przebyłym UNM, które manifestując się na poziomie różnic w transkryptomie oraz proteomie płytek krwi, pozwolą na opracowanie białkowego biomarkera sygnalizującego wcześniejsze wykrycie zwiększonej osobniczej skłonności do wystąpienia UNM. Poszukiwanie nowych markerów molekularnych ma szczególne znaczenie w przypadku płytek krwi, które pomimo udokumentowanej roli w tym schorzeniu nie zostały dotychczas szeroko zbadane pod tym kątem. Wykazanie genetycznych podstaw występowania zmian czynnościowych i strukturalnych przekładających się na funkcjonalność płytek krwi może poszerzyć dotychczasowy stan wiedzy na temat molekularnych mechanizmów leżących u podłoża UNM.

Innowacyjność niniejszego projektu polega na jego dwutorowości. Analiza proteomu oraz transkryptomu płytek krwi zostanie wykonana jednocześnie, w celu zidentyfikowania różnic nie tylko na poziomie białek ale również ich transkryptów. Pozwoli to na wyeliminowanie tych zmian, które mogłyby powstać wskutek włączonej farmakoterapii przeciwplatekowej, gdyż ze względu na brak jądra komórkowego leki te nie wpływają na proces transkrypcji w płytkach krwi, a obecne w płytkach cząsteczki mRNA charakteryzują się bardzo dużą stabilnością.

W pierwszym etapie badań, w grupie badanej i w grupie kontrolnej zostanie przeprowadzona analiza porównawcza profilu białkowego metodą elektroforezy dwukierunkowej (2-DE), a następnie za pomocą spektrometrii masowej zidentyfikowane zostaną białka wykazujące różną ekspresję w obu grupach. W tym samym czasie będzie wykonana analiza porównawcza ekspresji profilu mRNA techniką mikromacierzy. Walidacja wyników dla transkryptów wykazujących różnice ekspresji w obu grupach zostanie przeprowadzona za pomocą innowacyjnej techniki Droplet Digital PCR, która umożliwia bardzo czułą kwantyfikację kwasów nukleinowych, w której analizowana próbka frakcjonowana jest na 20 000 nano kropli, z których każda podlega niezależnej analizie. Uzyskane wyniki będą porównane względem siebie w celu określenia korelacji pomiędzy podwyższonym stężeniem białka a zwiększoną ekspresją transkryptu mRNA. Dla cząsteczek wykazujących różnice zarówno na poziomie transkryptomu jak i proteomu, zostanie przeprowadzona ilościowa analiza produktu białkowego za pomocą immunoenzymatycznej metody Bio-Plex, której walidacja dokonana będzie techniką Western Blot.