

Wpływ delecji RAGE/Diaph1 na zmniejszenie uszkodzenia siatkówki i nerwu wzrokowego w cukrzycy

W ramach niniejszego projektu planuję określić rolę sygnalizacji RAGE (receptor końcowych produktów zaawansowanej glikacji) i Diaph1 (białkowy homolog diaphanous 1) w rozwoju zaburzeń wzroku spowodowanych zwyrodnieniem siatkówki i nerwu wzrokowego w cukrzycy. W ciągu ostatnich kilku dekad cukrzyca stopniowo stała się jedną z najczęstszych chorób niezakaźnych, dotykając 476,0 mln osób w 2017 r. i przewiduje się, że w roku 2025 dotknie 570,9 mln osób. Przewiduje się, że u jednego na trzech pacjentów dotkniętych cukrzycą rozwiną się w przebiegu choroby zaburzenia wzroku o różnym stopniu nasilenia. Szereg czynników patologicznych takich jak zmiany mikronaczyniowe i neuronalne, nasilenie miejscowego stanu zapalnego, glikacja białek cytoszkieletu, stres oksydacyjny i wadliwy transport rzęskowy przyczynia się do wywołanego cukrzycą upośledzenia widzenia. Liczne dowody wskazują, że zarówno RAGE, jak i Diaph1 są zaangażowane w wywołane cukrzycą zmiany nerwowo-naczyniowe, strukturalne i metaboliczne w komórkach i tkankach najbardziej podatnych na hiperglikemię i toksyczność glukozy. W oparciu o aktualną wiedzę proponuję innowacyjne, translacyjne podejście do badań mechanizmów molekularnych leżących u podstaw rozwoju wywołanych cukrzycą uszkodzeń siatkówki i nerwu wzrokowego prowadzących do zaburzeń widzenia. W proponowanym projekcie łączę najnowsze wyniki badań nad sygnalizacją RAGE-Diaph1 z moim doświadczeniem badawczym, wynikami wstępnymi i moją własną, wcześniejszą pracą badawczą dotyczącą roli RAGE w neurodegeneracji w modelach zwierzęcych i u pacjentów z chorobami neurozwyrodnieniowymi.

RAGE jest receptorem transdukcji sygnału, którego aktywacja powoduje wzrost ilości cząsteczek prozapalnych, stresorów oksydacyjnych i cytokin. RAGE został po raz pierwszy zidentyfikowany jako komórkowy receptor powierzchniowy końcowych produktów zaawansowanej glikacji (AGE), powstających podczas nieenzymatycznej glikozylacji oraz utleniania białek/lipidów, które gromadzą się podczas fizjologicznego starzenia, ale także w cukrzycy, stanach zapalnych i chorobach neurozwyrodnieniowych. Diaph1 należy do form Rho-GTPaz, znanych ze swojej regulacyjnej roli w modyfikacji strukturalnej aktyny, mikrotubuliny i pokrewnych białek cytoszkieletu, wpływających poprzez to na morfologię, ruchliwość i wydzielanie komórek. Diaph1 się głównie związany z regulacją maszynierii cytoszkieletu, wiążąc się z głównymi białkami szkieletu komórkowego. W ostatnich latach odkryto, że RAGE i Diaph1 współpracują ze sobą, przy czym RAGE wiąże się z Diaph1 poprzez swój ogon cytozolowy. RAGE należy do grupy receptorów rozpoznających wzorce i podobnie jak Diaph1 stanowi część kaskady sygnalizacyjnej RhoA. Stwierdzono, że wraz z Diaph1 odgrywa główną rolę w patogenezie cukrzycy i związanych z nią powikłań.

Stawiam hipotezę, iż podwójna delecja genu RAGE-Diaph1 spowolni postępujące pogorszenie widzenia, skutecznie blokując kaskadę metabolicznych zmian wywołanych przez sygnalizację RAGE-Diaph1 w cukrzycy. Aby przetestować niniejszą hipotezę, zastosuję podejście translacyjne, badając próby pochodzące od pacjentów z cukrzycą jak i od zwierząt „dzikich” oraz z delecją RAGE-Diaph1 z cukrzycą indukowaną farmakologicznie. W pierwszej fazie projektu będę badać in vivo wpływ cukrzycy na zwyrodnienie, proliferację naczyń oraz obecność odczynów zapalnych w siatkówce i nerwie wzrokowym, a następnie przeprowadzę analizę porównawczą ex vivo ekspresji białek i genów RAGE, Diaph1 i ich sygnalizacyjnych partnerów w próbkach krwi i łez pochodzących zarówno pacjentów, jak i od zwierząt doświadczalnych w określonych punktach czasowych w przebiegu choroby. W drugiej fazie przetestuję swoje założenie poprzez farmaceutyczną blokadę sygnalizacji RAGE-Diaph1 w dostępnych komercyjnie unieśmiertnionych kulturach ludzkich komórek siatkówki o prawidłowym genotypie i fenotypie, hodowanych w środowisku normo- i hiperglikemicznym. Wreszcie, w trzecim etapie planuję zweryfikować uzyskane wyniki poprzez zastosowanie inhibitora RAGE-Diaph1 u myszy typu dzikiego chorych na cukrzycę i ocenę skuteczności takiego zastosowania w porównaniu do genetycznej delecji RAGE-Diaph1. Jeśli moje założenie się potwierdzi, uzyskane wyniki będą stanowić podstawę do dalszych badań sygnalizacji RAGE-Diaph1 w profilaktyce i leczeniu uszkodzeń siatkówki i nerwu wzrokowego wywołanych cukrzycą.



Ryc.1. Przedstawienie hipotezy. Interakcje RAGE-Diaph1 odgrywają znaczącą rolę w wielu dalszych szlakach metabolicznych związanych z wywołanymi hiperglikemią zmianami molekularnymi i strukturalnymi prowadzącymi do uszkodzeń siatkówki i nerwu wzrokowego, które, nieleczone, powodują upośledzenie a ostatecznie utratę wzroku; przewidujemy, że zablokowanie sygnalizacji RAGE-Diaph1 zatrzyma lub przynajmniej spowolni postęp zmian patologicznych oka, zachowując wzrok i zapobiegając utracie widzenia.