

Rola sygnalizacji Diaph1 w autonomicznej neuropatii sercowo-naczyniowej w cukrzycy

Autonomiczna neuropatia sercowo-naczyniowa (CAN) dotyka do 91% pacjentów z cukrzycą typu 1 i do 75% pacjentów z cukrzycą typu 2. Postępuje niezauważenie, niezdiagnozowana przez lata, degenerując autonomiczne włókna nerwowe serca i naczyń krwionośnych. CAN prowadzi do katastrofalnych konsekwencji, takich jak zaburzenia rytmu serca, bezobjawowe niedokrwienie mięśnia sercowego oraz bez leczenia, nagłe zatrzymanie krążenia (nagła śmierć sercowa). Pomimo poprawy w zrozumieniu cukrzycy i związanych z nią powikłań, pełny obraz rozwoju i postępu CAN pozostaje nieodkryty. Nasz projekt koncentruje się na tym nowatorskim temacie, aby ujawnić przyczyny i potencjalnie nowe rozwiązania terapeutyczne w leczeniu CAN u pacjentów z cukrzycą.

W naszym badaniu planujemy rozszyfrować rolę białka Diaph1 (Diaphanous protein homolog 1) w kontekście CAN. Diaph1, należące do rodziny białek formin, jest znane ze swojej roli w polimeryzacji aktyny i regulacji cytoszkieletu. Pojawiające się dowody uzyskane dzięki naszym trwającym badaniom sugerują, że Diaph1 może być kluczowym graczem w rozwoju CAN. RAGE (Receptor for Advanced Glycation End-products) jest transbłonowym receptorem z rodziny immunoglobulin, silnie związanym z odpowiedzią immunologiczną i stanem zapalnym, kluczowym w rozwoju powikłań cukrzycy. Reaguje z Diaph1 w szlaku sygnalizacji. Naszą bazą badawczą jest ugruntowany i powszechnie stosowany zwierzęcy model cukrzycy indukowanej farmakologicznie, wykorzystując streptozotocynę. W tym modelu patologiczne zmiany obserwowane w tkankach najbardziej wrażliwych na hiperglikemię (podwyższony poziom cukru we krwi) naśladują zmiany w tkankach osób z cukrzycą. Nasze grupy badawcze obejmują myszy z cukrzycą trzy i sześć miesięcy od potwierdzenia hiperglikemii oraz kontrole bez cukrzycy, o różnych genotypach. Niemodyfikowane – typu dzikiego i modyfikowane genetycznie z wykorzystaniem techniki CRISPR-Cas9 – knockout Diaph1, knockout RAGE i knockout Diaph1-RAGE. Badanie obejmuje również neurofilament, beta-aktynę i profilinę, które są białkami pełniącymi rolę potencjalnych markerów neurodegeneracji. Ich zmieniona ekspresja może dostarczyć informacji dotyczących modyfikacji komórkowych i molekularnych w CAN.

W tym celu planujemy wykorzystać stanowiące złoty standard techniki barwienia immunofluorescencyjnego i immunoblottingu – wcześniejsze doświadczenia z modelem pozwoliły na optymalizację procedur. Zastosowanie sekwencjonowania nowej generacji (NGS) pozwoli zgromadzić obszerne informacje na temat różnic w ekspresji RNA w tkance serca. Planujemy zastosować dodatkowe techniki barwienia histologicznego w celu wizualizacji zmian morfologicznych zachodzących w CAN. To dogłębne podejście może wyjaśnić rolę wybranych białek w patogenezie i rozwoju CAN. Złożony projekt badania zapewnia kompleksowy zestaw danych na ten temat. Jest również zgodny z zasadą 3R, ponieważ serca myszy pochodzą z naszego innego projektu. Ma to na celu zmniejszenie liczby zwierząt i zasobów potrzebnych do pozyskania danych oraz przeciwdziałanie marnotrawstwu materiału biologicznego.

Mamy nadzieję, że rzucając światło na nowe szlaki sygnałowe w CAN, znacząco przyczynimy się do zrozumienia etiopatogenezy tego stanu. Wyniki mogą uutorować drogę do uzyskania dokładniejszych narzędzi diagnostycznych i prognostycznych oraz doprowadzić do opracowania innowacyjnych terapii, które mogą wydłużyć i poprawić jakość życia pacjentów z cukrzycą na całym świecie.