

Przeciwochrzęstowy efekt empagliflozyny w komórkowym modelu udaru niedokrwinnego OGD/R w systemie lab-on-a-chip

Udar niedokrwenny mózgu (ang. ischemic stroke, IS) jest jedną z głównych przyczyn zgonów i niepełnosprawności na całym świecie. Obecnie dominującym trendem jest starzenie się populacji, a wiek to główna, bo niemodyfikowalna przyczyna wzrostu zachorowalności ludzi na IS. Obecna terapia IS opiera się na jak najszybszym podaniu terapii farmakologicznej i/lub endowaskularnej żeby przywrócić przepływ krwi w niedokrwionej okolicy mózgowia. Jednak to wczesne działanie przynosi swój efekt u mniej niż połowy pacjentów, gdy pozostała grupa pacjentów cierpi z powodu rozmaitych niepełnosprawności do końca życia, z powodu braku dodatkowej, skutecznej neuroprotektoryjnej terapii wspomagającej wczesną terapię reperfuzyjną. Empagliflozyna (EMPA) to flocyna, która należy do grupy leków przeciwcukrzycowych. Jej działanie polega na hamowaniu kotransportera sodowo-glukozowego 2 (SGLT2i), które okazało się nie tylko skuteczne w leczeniu cukrzycy, jak również dzięki repozycjonowaniu stało się standardem leczenia chorób sercowo-naczyniowych. Coraz więcej badań wskazuje również na to, że lek ten może zostać z powodzeniem repozycjonowany również do leczenia chorób ośrodkowego układu nerwowego, w tym do leczenia powikłań IS takich jak obrzęk. EMPA w IS może hamować procesy związane z rozwojem obrzęku, poprzez wpływ na gospodarkę glukozy i tym samym na równowagę jonowo-elektrolitową chroniąc potencjał osmotyczny komórek przed niekontrolowanym napływem wody z naczyń do komórek mózgowia na skutek działania czynników aktywowanych niedokrwieniem. Jednak jej mechanizmy działania w IS są słabo poznane i ze względu na duży potencjał leczniczy wymaga szczegółowego zbadania.

Cele: Niniejszy projekt ma na celu wyjaśnienie mechanizmów, za pomocą których EMPA wpływa na procesy obrzękotwórcze po udarze niedokrwinnym. Stawiamy hipotezę, że EMPA hamując transportery SGLT2 w komórkach NVU, ograniczy napływ sodu i glukozy do komórek, przez co zmniejszając osmotyczny napływ wody do nich, a tym samym zwiększy ich przeżywalność łagodząc obrzęk komórkowy po IS.

Metody: Ludzkie linie komórkowe NVU (komórki śródbłonna, perycyty i astrocyty) zostaną poddane: (i) normoksji; (ii) normoksji z podaniem EMPA; (iii) restrykcji/reperfuzji tlenowo-glukozowej (ang. oxygen glucose deprivation/reperfusion, OGD/R); oraz (iv) OGD/R z podaniem EMPA. Ocenimy: (a) dawkę leku; (b) wychwyt glukozy; (c) wychwyt sodu; (d) integralność bariery krew-mózg (ang. blood brain-barrier, BBB); (e) obrzęk komórek w warunkach statycznych i z zastosowaniem mikroprzepływu, za pomocą szeregu różnych testów molekularnych i funkcjonalnych, oraz technikami obrazowania mikroskopowego, w tym analizy przeżywalności, Western blotting, TEER, mikroskopii holograficznej i mikroskopii konfokalnej.

Oczekiwane wyniki: Przewidujemy, że EMPA zmniejszy wychwyt glukozy i sodu oraz dokomórkowy transport wody, przez co zwiększy przeżywalność komórek NVU w warunkach niedokrwienia łagodząc następujący po IS obrzęk komórek.

Znaczenie: Badania te przyczynią się nie tylko do lepszego zrozumienia neuroprotektoryjnych mechanizmów EMPA w leczeniu IS, ale również pomyślnie wykazanie korzyści płynących z EMPA mogą przyspieszyć proces repozycjonowania tego leku i poprawy leczenia udaru mózgu, zmniejszenia śmiertelności i niepełnosprawności wśród chorych. Wykorzystanie w projekcie zaawansowanych modeli mikroprzepływowych ograniczy problem słabej translacyjności między badaniami in-vitro a in-vivo, a tym samym niepowodzenia dalszych badań in-vivo na zwierzętach i na ludziach, które składają się na proces repozycjonowania leków. Dzięki temu uzyskane wyniki i ich kontekst lepiej odzwierciedlą faktyczne warunki fizjologiczne panujące w mózgowiu po IS.