

Wimentyna jest białkiem tworzącym sieć filamentów pośrednich (VIF) w komórkach, która łączy włókna aktynowe z siecią mikrotubul (MT), tworząc cytoszkielet komórki. Ta sieć białkowa pełni wiele funkcji, a jedną z nich jest utrzymywanie kształtu komórek i ich właściwości mechanicznych. Nadekspresja wimentyny występuje w fibroblastach (FB) w zwłóknionej tkance płucnej. Patologia ta jest częstym objawem idiopatycznego zwłóknienia płuc (IPF) czy mukowiscydozy (CF). Przyczyna IPF nie jest jasna, jednak choroba ta często rozwija się w płucach osób starszych, a CF jest zaburzeniem genetycznym. W obu przypadkach pacjenci mają trudności z oddychaniem z powodu sztywnienia tkanki płucnej, co zmniejsza elastyczność płuc i zmniejsza ilość wdychanego powietrza (tlenu). Nie ma lekarstwa na IPF, a leczenie ma na celu spowolnienie postępu choroby, łagodzenie objawów i poprawę jakości życia. W przypadku CF w ostatnich latach nastąpił przełom w leczeniu, zwłaszcza dzięki terapiom modulatorami CFTR (błonowy regulator przewodnictwa związany z mukowiscydozą), ale mimo tego sukcesu nadal stosuje się terapie ukierunkowane na łagodzenie objawów.

W ramach projektu planujemy przetestować trzy wybrane molekuły celujące w cytoszkielet wimentynowy (VIF). Zbadamy, w jaki sposób modyfikacja sieci wimentynowej wpływa na właściwości reologiczne komórek i modelowanej tkanki płucnej. Model tkanki płucnej zostanie utworzony poprzez osadzenie normalnych i chorych fibroblastów w trójwymiarowych hydrożelach kolagenowych. Model płuc zostanie poddany ścisłaniu i rozciąganiu, naśladując sprężanie i rozprężanie tkanki podczas oddychania. Następnie do modelu tkanki zostaną wprowadzone FB uprzednio poddane działaniu środków celujących w VIF. Właściwości reologiczne hydrożelu z komórkami zostaną zmierzone za pomocą reometru. Jednocześnie interakcje między matrycą kolagenową a FB (migracja komórek, wydłużanie komórek lub ciągnięcie włókien COL) będą obserwowane za pomocą mikroskopu optycznego/fluorescencyjnego zintegrowanego z reometrem. Znaczniki fluorescencyjne można zastosować do przeżyciowego barwienia komórek jak i barwienia sieci kolagenowej. Wybraliśmy trzy środki celujące w VIF: Witaferynę A powodującą rozpad cytoszkieletu wimentynowego, trametinib który powoduje przestrzenne rozluźnienie sieci wimentyny i ALD-R491 cząsteczkę stabilizującą VIF. Charakterystykę mikroreologiczną nietraktowanych i traktowanych fibroblastów przeprowadzimy za pomocą mikroskopii sił atomowych (AFM, pomiary relaksacji i przemieszczania częstotliwości). AFM zostanie również wykorzystane do obrazowania topografii komórek i porównania adhezji FB do białek macierzy zewnątrzkomórkowej przed i po leczeniu farmakologicznym.

Projekt ten ma na celu pogłębienie naszej wiedzy na temat roli włókien pośrednich wimentyny (VIF) w regulacji właściwości reologicznych fibroblastów i ich zdolności do przebudowy macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM) w trójwymiarowych modelach zwłóknienia płuc. Wyniki tego projektu mogą potencjalnie doprowadzić do opracowania nowych strategii terapeutycznych dla IPF i CF w oparciu o środki ukierunkowane na VIF.