Choroby cywilizacyjne są głównym problemem medycznym XXI wieku i uważa się, że powodują około 80% zgonów na całym świecie. Ich rozwój jest związany ze stanem zapalnym, który powoduje aktywację odpowiedzi układu odpornościowego i dalszą transmigrację leukocytów (Leu) przez komórki śródbłonka (ECs) do miejsca zapalenia. Te interakcje komórka-komórka są kluczowe dla zrozumienia zmian w chorobach cywilizacyjnych. W stanie zapalnym Leu ulegają aktywacji, a proces ten jest ważnym etapem odporności adaptacyjnej i wrodzonej, obejmuje adhezję i transmigrację Leu przez ECs. Różne subpopulacje Leu są zaangażowane w różne odpowiedzi zapalne, np. limfocyty T w miażdżycy, a monocyty w chorobie wieńcowej. Proces transmigracji można badać za pomocą mikroskopii fluorescencyjnej, transmisyjnej mikroskopii elektronowej, cytometrii przepływowej lub spektrometrii mas. Metody te dostarczają informacji jedynie o globalnych zmianach w komórkach, takich jak lipidowość komórek lub obecność białek/receptorów na powierzchni komórek. Metody te nie dostarczają jednak szczegółowych informacji na temat zmian molekularnych wewnątrz pojedynczych komórek. Rola karotenoidów i lipidów jest dobrze znana w procesach zapalnych, podczas gdy ich metabolizm, zmiany strukturalne lub wymiana między komórkami nadal pozostają niewyjaśnione.

Moja hipoteza jest następująca: i/ stymulacja stanu zapalnego in vitro w modelach ECs chorób cywilizacyjnych aktywuje wybrane komórki Leuk, a ich aktywacja zachodzi na różne sposoby; ii/ obecność karotenoidów w komórkach Leu zmienia wydajność ich transmigracji przez ECs; iii/ wydajność transmigracji Leu różni się w normalnych komórkach i komórkach narażonych na egzogenne tłuszcze.

Projekt ten ma na celu wyjaśnienie interakcji i wzajemnego wpływu Leu i ECs podczas stanu zapalnego przy użyciu technik spektroskopii Ramana (RS) in situ. W szczególności planowane jest 1/ zbudowanie spektroskopowego atlasu leukocytów - wybrane zostaną unikalne markery spektroskopowe dla wybranych podtypów Leu; 2/ zidentyfikowanie spektroskopowych markerów aktywacji Leu i zmian biochemicznych w procesie adhezji/transmigracji przez ECs w stanie zapalnym; 3/ określenie zmian w procesie aktywacji Leu indukowanej stanem zapalnym w ECs; 4/ śledzenie zmian w wymianie karotenoidów i lipidów między Leu i ECs w procesie transmigracji z wykorzystaniem technik Ramana.

W pierwszym etapie projektu zidentyfikowane zostaną markery wybranych izolowanych podtypów Leu, a następnie scharakteryzowane zostaną zmiany metaboliczne i molekularne podczas procesu aktywacji. W kolejnym etapie interakcja Leu z ECs w procesach adhezji/transmigracji będzie badana w warunkach normalnych i zapalnych. Zapalenie komórek zostanie wywołane przez TNF i IL-1β. Jednocześnie zostanie zbadane, czy zachodzi między nimi wymiana substancji egzogennych i jakie zmiany metaboliczne temu towarzyszą.

Badania będą prowadzone przy użyciu szeregu technik ramanowskich in situ (RS, stymulowane rozpraszanie ramanowskie - SRS, koherentna spektroskopia ramanowska anty-Stokes - CARS) wraz z innymi uznanymi metodami (mikroskopia fluorescencyjna i cytometria przepływowa). Planowana jest charakterystyka 3M Raman (molekularna, morfologiczna i metaboliczna) pojedynczych komórek, zarówno Leu, jak i ECs. Oceniana będzie zdolność do wymiany i transportu substancji (karotenoidów i lipidów) pomiędzy komórkami Leu i ECs, a także ocena zmian jakościowych w znakowanych lipidach. Spektroskopia Ramana dostarcza szczegółowych informacji na temat składu i pozwala śledzić zmiany w czasie w pojedynczych komórkach.

Badania nad komunikacją międzykomórkową między Leu i ECs, w tym transportem międzykomórkowym, są innowacyjnym podejściem, które przyczyni się do lepszego zrozumienia mechanizmu procesów zapalnych związanych z wybranymi chorobami cywilizacyjnymi. Może to

przyczynić się do opracowania nowych strategii leczenia, szczególnie w przypadku przewlekłych stanów zapalnych, których leczenie nadal stanowi wyzwanie.