

Nerki stanowią mniej niż 1% masy ciała człowieka, ale na zaspokojenie ich potrzeb nasz organizm przeznaczają aż 10% całkowitego zużycia tlenu. W ramach obecnego projektu analizowana będzie sytuacja, w której nerki nie są dostatecznie zaopatrywane w tlen. Taki problem pojawia się u osób cierpiących na cukrzycę, której jednym z najpoważniejszych powikłań jest upośledzenie funkcjonowania nerek.

Za odpowiedź organizmu na warunki niedotlenienia (hipoksję) jest odpowiedzialny przede wszystkim czynnik transkrypcyjny HIF-1 (ang. *hypoxia-inducible factor*), kontrolujący ekspresję licznych genów, których wspólną cechą jest obecność sekwencji HRE (ang. *hypoxia response element*) w rejonie promotorowym. Głównym zadaniem HIF-1 jest przełączanie metabolizmu tlenowego na beztlenowe uzyskiwanie energii. HIF-1 jest ważnym regulatorem metabolizmu glukozy – aktywuje glikolizę; istnieją także doniesienia o stymulującym działaniu HIF-1 na aktywność glukoneogenezy (procesu syntezy glukozy *de novo* z substratów niecukrowych) w wątrobie; nie ma natomiast żadnych danych odnośnie wpływu aktywacji HIF-1 na wytwarzanie glukozy przez nerki, chociaż wiadomo, że one także są istotnym źródłem glukozy, którego znaczenie dodatkowo wzrasta m.in. w warunkach cukrzycy.

Funkcjonalne białko HIF-1 składa się z dwóch podjednostek:  $\alpha$  i  $\beta$ . Ta druga jest stale obecna w komórce, natomiast zawartość HIF-1 $\alpha$  podlega precyzyjnej regulacji – w warunkach tlenowych jest ona degradowana po „naznaczeniu” przez hydroksylazy, enzymy wrażliwe na stężenie tlenu w komórce. Wydaje się jednak, że w pewnych sytuacjach do wzrostu poziomu HIF-1 $\alpha$  może dochodzić pod wpływem czynników innych niż samo niedotlenienie. Zagadnienie wpływu wysokiego stężenia glukozy (hiperglikemii) na regulację aktywności HIF-1 budzi wiele kontrowersji; dostępne w piśmiennictwie dane są sprzeczne.

Celem obecnego projektu jest zatem: wskazanie mechanizmów odpowiedzialnych za obserwowaną w warunkach hiperglikemii wzmożoną ekspresję HIF-1 $\alpha$  w kanalikach proksymalnych nerek oraz wyjaśnienie roli HIF-1 w regulacji aktywności nerkowego procesu glukoneogenezy.

Badania zostaną przeprowadzone na liniach komórkowych: HK-2 (unieśmiertelnione ludzkie komórki kanalików nerkowych), D-RPTEC i RPTEC (pierwotne ludzkie komórki nabłonkowe kanalików proksymalnych, pochodzące, odpowiednio, od dawcy ze zdiagnozowaną cukrzycą typu 2 i od osoby zdrowej). W eksperymentach dotyczących wytwarzania glukozy dodatkowo wykorzystane zostaną pierwotne kanaliki proksymalne wyizolowane z nerek królika. Komórki będą hodowane w warunkach normalnego stężenia tlenu (normoksja) lub przy 1% stężeniu tlenu (hipoksja). Następnie oznaczone zostaną m.in. aktywność, ekspresja i modyfikacje postranslacyjne wybranych białek (enzymów, czynników transkrypcyjnych,) oraz wydajność wiązania wybranych czynników transkrypcyjnych do DNA. Wpływ hipoksji i aktywacji HIF-1 na przebieg procesu glukoneogenezy będzie badany m.in. na podstawie pomiaru zmian wewnątrzkomórkowego stężenia metabolitów pośrednich szlaku.

Oczekuje się, że uzyskane wyniki w istotny sposób poszerzą wiedzę na temat roli HIF-1 w kanalikach proksymalnych nerek, ze szczególnym uwzględnieniem sytuacji mającej miejsce podczas cukrzycy. Dane te mogą okazać się bardzo użyteczne w kontekście postulowanego, choć wzbudzającego niemało kontrowersji, wykorzystania modulacji aktywności HIF-1 w terapii chronicznych chorób nerek, w tym nefropatii cukrzycowej. Jak poważnym wyzwaniem dla współczesnej medycyny jest ta ostatnia, najlepiej świadczą statystyki Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) – na cukrzycę cierpi obecnie około 350 milionów ludzi, czyli ponad 6% dorosłej populacji, a liczba ta ciągle wzrasta.