

POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU

Kłębuszek nerkowy to sieć naczyń włosowatych tętniczych, który wraz z otaczającą go torebką Bowmana wchodzi w skład podstawowej jednostki filtracyjnej nerek – nefronu. W skład filtru kłębuszkowego wchodzi komórki śródbłonna kłębuszkowych kapilar, błona podstawna oraz unikalne, wysoko wyspecjalizowane i ostatecznie zróżnicowane komórki podocytarne (podocyty). Filtr kłębuszkowy stanowi szczelną barierę dla białek osocza. Podocyty są głównymi komórkami utrzymującymi jego strukturę i funkcję. Podobnie jak neurocyty nie ulegają podziałom komórkowym, posiadają bogate w aktyne wypustki stopowe, którymi oplatają błonę podstawną. Bariereę filtracyjną dla białek stanowią błony szczelinowe rozpięte pomiędzy wypustkami sąsiadujących podocytów, które są zakotwiczone w błonie podstawnej. Krew napływająca do kłębuszkowych kapilar jest filtrowana przez śródbłonek i kłębuszkową błonę podstawną oraz błony szczelinowe podocytów. Wskutek filtracji powstaje mocz pierwotny. W zdrowym kłębuszku nerkowym bariera filtracyjna uniemożliwia przedostanie się do moczu makrocząsteczkom takim jak białka, natomiast jest przepuszczalna dla wody i małych cząsteczek. Uszkodzenie podocytów prowadzi do białkomoczu, cechy charakterystycznej dla większości chorób kłębuszka nerkowego. Utrata podocytów z kłębuszka jest wczesnym i kluczowym objawem rozwoju nefropatii cukrzycowej, chronicznej, postępującej choroby, rozwijającej się u co najmniej 40% pacjentów chorych na cukrzycę. W zaawansowanym stadium choroby konieczna jest dializoterapia, a nawet przeszczep narządu.

W ostatnich latach stwierdzono, że podocyty są komórkami wrażliwymi na działanie insuliny, co więcej, zdolność podocytów do odpowiedzi na insulinę jest cechą niezbędną dla prawidłowego funkcjonowania kłębuszka nerkowego, a nieprawidłowości na szlaku sygnałowania insulinowego w podocytach w konsekwencji prowadzą do zaburzeń charakteryzujących nefropatię cukrzycową. Proponowany projekt badawczy stanowi próbę wyjaśnienia w jaki sposób dochodzi do zaburzenia funkcji podocytów oraz indukcji insulinooporności tych komórek w warunkach hiperglikemicznych, odzwierciedlających warunki cukrzycowe, gdyż mechanizmy leżące u podstaw utraty wrażliwości podocytów na insulinę pod wpływem wysokiego stężenia glukozy wciąż pozostają niewyjaśnione.

Najbardziej powszechną modyfikacją, której podlegają białka komórkowe jest fosforylacja, jednakże wiele badań wykazuje, że coraz więcej białek jest modyfikowanych na drodze acetylacji i deacetylacji. W literaturze naukowej można znaleźć coraz więcej dowodów na rolę acetylacji w regulacji metabolizmu komórkowego. Do tej pory zidentyfikowano ponad 2000 acetylowanych białek, a ten odwracalny proces wydaje się być kluczowy w regulacji aktywności wielu białek komórkowych. Sirtuiny to białka z rodziny deacetylaz, których aktywność enzymatyczna jest powiązana z wieloma szlakami sygnałowania komórkowego. Najintensywniej badanym białkiem z rodziny sirtuin jest deacetylaza SIRT1. Wiele badań wykazało, że SIRT1 odgrywa istotną rolę w regulacji wrażliwości komórek na działanie insuliny. Badania przeprowadzone w naszym zespole wykazały, że w podocytach eksponowanych na wysokie stężenie glukozy zmniejszony jest poziom białka oraz aktywność enzymatyczna SIRT1, czemu towarzyszy zniesienie wrażliwości na insulinę oraz zaburzenia funkcji tych komórek. Poziom białka oraz aktywność SIRT1 może być regulowana przez tlenek azotu (NO). Ostatnie badania wykazały, że zahamowanie aktywności fosfodiesterazy 5 (PDE5) wzmacnia ścieżkę sygnałową zależną od NO i cyklicznego GMP (cGMP) uaktywniając kaskadę sygnałową, która w rezultacie zwiększa aktywność regulowanej przez PDE5 zależnej od cGMP kinazy białkowej G (PKG), prowadząc do aktywacji SIRT1 i poprawy wrażliwości na insulinę *in vitro* w mysich adipocytach, mioblastach i hepatocytach oraz *in vivo* u otyłych myszy. Obserwacje te sugerują że ścieżka NO/cGMP/PKG/PDE5 może regulować aktywność SIRT1 również w podocytach. W związku z tym zakładamy, że indukowane wysokim stężeniem glukozy zmniejszenie ilości białka SIRT1 oraz aktywności deacetylazy, obniżenie wrażliwości podocytów na insulinę oraz zaburzenia funkcji tych komórek może być skutkiem zaburzeń na szlaku sygnałowania NO/cGMP/PKG/PDE5. Badania podjęte w ramach proponowanego projektu badawczego będą miały na celu zbadanie możliwości przywrócenia ilości białka i aktywności enzymatycznej SIRT1, a w konsekwencji wrażliwości na insulinę w warunkach hiperglikemicznych wskutek ekspozycji na związki będące modulatorami aktywności PDE5 i PKG. Badany będzie również wpływ aktywności SIRT1 na enzymy zaangażowane w ścieżkę zależną od NO/cGMP. Uzyskane wyniki powinny nas zbliżyć do zrozumienia zaburzeń, jakie mają miejsce w przebiegu nefropatii cukrzycowej, prowadzącej w końcowym etapie do upośledzenia czynności nerek i ich niewydolności.