

Powszechnie wiadomo, że witamina D ma ogromny wpływ na nasze kości. Pomimo rosnącej wiedzy na temat tego hormonu, wiele badań ostrzega przed globalnym niedoborem witaminy D, wynikającym głównie ze względu na nowoczesny styl życia oraz unikanie słońca, dzięki któremu powstaje witamina D w naszej skórze. Ponadto niedobór witaminy D jest związany z występowaniem i progresją szeregu chorób cywilizacyjnych, w tym: chorób naczyniowo-sercowych, chorób autoimmunologicznych, cukrzycy, oraz nowotworów. Jednak pomimo rosnących ilości badań populacyjnych i prób klinicznych potwierdzających pozytywny wpływ witaminy D na nasze zdrowie, wiele naukowców i organizacji zajmujących się zdrowiem publicznym ogranicza rolę witaminy D do leczenia krzywicy lub osteoporozy.

Klasyczny model działania witaminy D opiera się na wiązaniu jej aktywnej formy, kalcytriolu ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$), do receptora VDR, czego efektem jest modulacja ekspresji setek genów. Jednakże, aktywacja ekspresji genów nie w pełni wyjaśnia dynamikę i różnorodności odpowiedzi komórkowej na witaminę D. Stosunkowo niedawno opisano szybką odpowiedź (pozagenomową) na witaminę D, ale jej szczegółowy mechanizm oraz znaczenie jest słabo poznany. ***Celem projektu jest zbadanie i potwierdzenie nowych celów, szlaków i mechanizmów regulowanych przez witamina D na model ludzkich keratynocytów.***

Dlaczego ludzkie keratynocyty? Skóra ludzka jest nie tylko naturalnym źródłem, ale także ważnym celem aktywności witaminy D. Witamina D uczestniczy między innymi w odnawianiu najbardziej zewnętrznej warstwy skóry zwanej naskórkiem i obronie przed patogenami. Ostatnio wykazaliśmy, że witamina D i jej pochodne biorą udział w regulacji reakcji na stres w skórze. Z uwagi na swoje własności witamina D i jej analogi są obecnie stosowane w leczeniu łuszczycy, a wyniki dalszych badań, w tym naszych, wskazują na ich potencjalne zastosowanie również w leczeniu nowotworów skóry. Jednakże, różnorodny wpływ, jaki wywiera witamina D na nasz organizm, czy komórki, nie można prostu wyjaśnić poprzez aktywację receptora VDR, jako czynnika regulującego ekspresję genów.

Nowatorstwo niniejszego wniosku opiera się na obserwacji odpowiedzi witaminy D w żywych ludzkich keratynocytach, co pozwoli zbadać dynamikę tego procesu, kluczowe elementy oraz cele genomowej oraz pozagenomowej odpowiedzi na witaminę D. Aby wykazać istnienie potencjalnych różnic w odpowiedziach na witaminę D, badania przeprowadzone będą na prawidłowych ludzkich keratynocytach oraz komórkach nowotworowych. To podejście pomoże nam zbadać molekularne zmiany w odpowiedzi na witaminę D w komórkach nowotworowych i określić nowe potencjalne cele terapeutyczne dla witaminy D i jej analogów. Nasze wstępne badania wykazały obecność, co najmniej trzech wariantów mRNA dla receptora VDR w komórkach ludzkich i mysich linii czerniaka. Co więcej, wrażliwość komórek na analogi witaminy D zależała od ich ekspresji. Innym, białkiem wiążącym witaminę D jest PDIA3, które należy do białek opiekuńczych. Jednak wykazano również, że PDIA3 jest związany z sygnalizacją indukowaną przez witaminę D w błonie komórkowej, a ostatnie badania, nasze oraz innych grup, wykazały jego obecność w jądrze komórkowym. Dlatego też celem tego projektu, jest analiza wpływ izoform witaminy D, białka PDIA3 i koreceptora VDR (receptora RXR) na działanie witaminy D, poprzez selektywne wyciszenie lub nadprodukcję tych elementów. Przy wykorzystaniu specjalistycznego mikroskopu z komorą do badań żywych komórek będziemy śledzić lokalizację oraz translokację białek oddziałujących z witaminą D, co umożliwi zidentyfikowanie procesów, które regulują w keratynocytach stymulowanych witaminą D. Klasyczne metody biologii molekularnej będą wykorzystane, aby wskazać elementy odpowiedzialne za aktywację ścieżki genomowymi oraz pozagenomowej. Natomiast dzięki zastosowaniu sekwencjonowania nowej generacji zbadane będą nowe, charakterystyczne dla badanych elementów (izoform VDR, białka PDIA3) geny, na które wpływa witamin D. Dodatkowo, przy wykorzystaniu trójwymiarowych modeli skóry i eksplantów skóry (fragmentów skóry), sprawdzimy poprawność obserwacji dokonanych na modelach komórkowych. Zakładamy, że izoformy VDR oraz białko PDIA3 odgrywają zasadniczą, częściowo uzupełniającą się rolę w odpowiedzi na witaminę D poprzez regulację klasycznej odpowiedzi genomowej, oraz stymulację wewnątrzkomórkowych szlaków sygnalizacyjnych oraz przez modulowanie aktywności mitochondriów.

Wdrożenie projektu umożliwi poznanie mechanizmów molekularnych tłumaczących wielokierunkowe działanie witaminy D w ludzkiej skórze. Należy podkreślić, że wdrożenie tego projektu jest podstawą do dalszych badań, które potwierdzą istotność nowych mechanizmów oraz celów dla witaminy D na zwierzęcym modelu łuszczycy oraz nowotworów skóry.