

Cukrzycowa choroba nerek (nefropatia cukrzycowa, NC) jest najczęściej występującym powikłaniem cukrzycy typu 2 charakteryzującym się morfologicznymi oraz czynnościowymi zmianami zachodzącymi w nerkach, wywołanymi bezpośrednio przez przewlekłą hiperglikemię. Pierwszym klinicznym objawem NC jest albuminuria, która powstaje wskutek uszkodzenia kłębuszkowej bariery filtracyjnej (KBF) zbudowanej z komórek endotelialnych, błony podstawnej oraz podocytów. Podocyty są wysoce wyspecjalizowanymi, terminalnie zróżnicowanymi komórkami epitelialnymi nie wykazującymi zdolności regeneracyjnych. Zaburzenia w prawidłowym funkcjonowaniu podocytów są główną przyczyną zwiększonej przepuszczalności KBF, a ich utrata może być nieodwracalna w skutkach dla nerki.

Podocyty są komórkami wrażliwymi na działanie insuliny, która odgrywa niebagatelną rolę w regulacji przepuszczalności kłębuszkowej bariery filtracyjnej oraz wpływa pozytywnie na dokomórkowy transport glukozy poprzez zwiększenie translokacji pęcherzyków zawierających transportery glukozy 4 (GLUT4) z cytoplazmy do błony komórkowej.

Lizosomy odgrywają istotną rolę w funkcjonowaniu podocytów, m. in. poprzez regulację szlaku sygnałowego insuliny. W wyniku długotrwałej ekspozycji podocytów na wysokie stężenie insuliny dochodzi do lizosomalnej degradacji receptora insulinowego, a w konsekwencji skutkuje to rozwojem insulinooporności. Lizosomy są również zaangażowane w degradację endocytozowanej albuminy, dzięki czemu nie dochodzi do zatykania kłębuszkowej bariery filtracyjnej. Ponadto, przy powierzchni lizosomu, w warunkach niedoboru glukozy, dochodzi do aktywacji kinazy białkowej aktywowanej przez AMP (AMPK) przez kompleks lizosomalny, w skład którego wchodzi Ragulator, v-ATPaza, aksyna oraz kinaza LKB1.

AMPK jest kinazą serynowo/treoninową odpowiedzialną za utrzymanie homeostazy energetycznej komórki. Klasyczny szlak aktywacji AMPK opiera się o zmiany statusu energetycznego komórki. W warunkach deficytu składników odżywczych i energii, dochodzi do obniżenia stężenia ATP w komórce i zmiany metabolizmu komórki z anabolicznego na kataboliczny. AMPK jest zaangażowane w insulinozależną regulację dokomórkowego transportu oraz bierze udział w regulacji przepuszczalności kłębuszkowej bariery filtracyjnej. W chorobach związanych z rozwojem insulinooporności dochodzi do zniesienia stymulującego wpływu insuliny na aktywność AMPK oraz zostaje zahamowany stymulujący wpływ insuliny na AMPK-zależny dokomórkowy transport glukozy.

Mimo intensywne badań nad nerkowym AMPK, istnieje niewiele doniesień naukowych dotyczących regulacji aktywności AMPK przez lizosomy. Ponadto, wydaje się iż wpływ insuliny na aktywność AMPK w sposób zależny od kompleksu lizosomalnego nie został dotychczas zbadany w podocytach, choć może mieć on istotne znaczenie, szczególnie w rozwoju insulinooporności.

W związku z tym, głównym celem tego projektu jest zbadanie roli kompleksu Ragulator-v-ATPaza-aksyna/LKB1 w insulinozależnej regulacji ekspresji oraz aktywności AMPK a także wpływ lizosomów na przepuszczalność kłębuszkowej bariery filtracyjnej.

Badania będą prowadzone z wykorzystaniem pierwotnej linii podocytów szczurzych. Komórki będą hodowane w warunkach standardowego (5,6 mM) lub wysokiego (30 mM) stężenia glukozy w obecności lub bez insuliny. Dodatkowo, w celu zbadania potencjalnych zmian w aktywności kompleksu lizosomalnego w warunkach cukrzycy zostaną wykorzystane kłębuszki nerkowe pochodzące od genetycznie zmodyfikowanych szczurów rasy Zucker.

W celu wyjaśnienia problemu badawczego zostaną przeprowadzone badania sprawdzające: a) wpływ insuliny oraz wysokiego stężenia glukozy na aktywność kompleksu lizosomalnego, b) rolę lizosomów w regulacji dokomórkowego transportu glukozy oraz c) rolę lizosomów w regulacji kłębuszkowej bariery filtracyjnej.

Zbadanie nowego alternatywnego szlaku sygnałowego umożliwi uzupełnienie wiedzy na temat molekularnych mechanizmów regulacji aktywności AMPK oraz pozwoli na częściowe wyjaśnienie roli lizosomów w patogenezie cukrzycy. Ponadto, zgłębienie tego zagadnienia może przyczynić się do odkrycia nowych potencjalnych celów terapeutycznych, które pozwolą zapobiegać rozwojowi nefropatii cukrzycowej, a w przypadku rozwoju tej choroby umożliwią skuteczne jej leczenie.