

Cel badań: Dla pacjentów chorujących na niewydolność nerek dializa otrzewnowa (PD) jest ratującą życie formą terapii nerkozastępczej. W tym typie leczenia otrzewna wyścielająca jamę brzuszną i chroniąca narządy wewnętrzne, spełnia rolę błony dializacyjnej. Do jamy otrzewnej wprowadzane są płyny dializacyjne, dzięki czemu możliwe jest usuwanie toksyn mocznicowych i nadmiaru płynów. Niestety długotrwałe narażenie błony otrzewnej na płyny dializacyjne może powodować zmiany strukturalne tego narządu, które ostatecznie prowadzą do niepowodzenia techniki. Komórki mezotelium otrzewnowego (HPMC) stanowią największą frakcję komórek w otrzewnej i odgrywają ważną rolę w transporcie cząstek, zapaleniu i gojeniu ran. Te funkcje są ważne również w kontekście dializy otrzewnowej. Liczne badania wykazały, że zarówno długotrwała ekspozycja na płyny, jak i wpływ zapalenia związanego z terapią, niekorzystnie wpływa na żywotność i funkcję mezotelium. Jednym z dobrze udokumentowanych procesów zachodzących w komórkach mezotelialnych jest przejście nabłonkowo-mezenchymalne (EMT). EMT przyczynia się do pogrubienia błony otrzewnej w procesie włóknienia, które jest częstym niepożądanym skutkiem terapii u dializowanych pacjentów. Uważa się, że za EMT w dużej mierze odpowiedzialny jest transformujący czynnik wzrostu beta (TGF- β). Co ciekawe, TGF- β jest również zaangażowany w proces starzenia się mezotelium. Wykazano, że TGF- β pośredniczy w takich aspektach starzenia komórkowego, jak zatrzymanie wzrostu, przerost komórek i ekspresja związanej ze starzeniem β -galaktozydazy (SA- β -Gal).

Wyniki wcześniejszych badań eksperymentalnych i klinicznych sugerują, że w odpowiedzi na płyny dializacyjne w komórkach mezotelialnych może zachodzić zarówno EMT jak i starzenie komórkowe, co związane jest z produkcją czynników pro-angiogennych i pro-zwłókninowych, które z kolei mogą wpływać na strukturę i funkcję otrzewnej. Chociaż TGF- β został zidentyfikowany jako kluczowy mediator zarówno w EMT, jak i starzeniu, nie jest jasne co decyduje o wyborze odpowiedzi komórkowej na TGF- β podczas dializoterapii. Aby uzyskać szczegółowy wgląd w to, jak komórki mezotelialne reagują na TGF- β w kontekście dializy otrzewnowej, proponujemy szczegółową ocenę profilu ekspresji genów 'młodych' i 'starych' komórek mezotelialnych.

Metodyka badań: HPMC będą izolowane z drobnych fragmentów sieci większej usuwanych w czasie planowych zabiegów chirurgicznych. Świeżo wyizolowane komórki będą poddawane działaniu TGF- β , następnie odpowiednie próbki (całkowity mRNA, lizaty komórkowe, komórki utrwalone) będą zbierane do późniejszej analizy. Równolegle HPMC będzie hodowane aż do czasu wejścia w fazę starzenia, które będzie oceniane przez wybarwienie SA- β -Gal. Komórki stare następnie będą również poddane działaniu TGF- β , w taki sam sposób, jak młode komórki. Jako pierwszy będzie oceniany profil ekspresji genów w badanych komórkach poprzez zastosowanie analizy mikromacierzy. Zidentyfikowane różnice w ekspresji mRNA będą weryfikowane przez qPCR oraz dodatkowo produkcja białek będzie oceniana przy zastosowaniu techniki Western blot i / lub barwienia immunofluorescencyjnego.

Znaczenie badań: Chociaż wydaje się, że istnieje pewien rodzaj związku między starzeniem się komórek a EMT, wciąż jego natura nie jest jasna. Wczesne dane sugerowały, że starzejące się komórki promują rozwój EMT, a tym samym rozwój nowotworów. Efekty te częściowo przypisano fenotypowi sekrecyjnemu związanemu ze starzeniem (SASP), w szczególności zwiększonemu uwalnianiu prozapalnych cytokin. Ta koncepcja może wyjaśnić interakcję pomiędzy starzeniem się komórek a EMT na poziomie tkanek, ale związek między tymi procesami na poziomie pojedynczej komórki jest prawdopodobnie znacznie bardziej złożony. Porównanie ekspresji genów i produkcji białek przez młode i starzejące się komórki w odpowiedzi na TGF- β i dalsza identyfikacja szlaków sygnalizacyjnych łączących EMT i starzenie mogą rzucić nowe światło na patofizjologię komórek mezotelialnych i pomóc zrozumieć zmiany zachodzące w komórkach w przebiegu dializy otrzewnowej.