

Cukrzycowa choroba nerek (DN) jest wynikiem przewlekłej hiperglikemii w przebiegu cukrzycy. DN charakteryzuje się albuminurią, która rozwija się w wyniku uszkodzenia kłębuszkowej bariery filtracyjnej, w skład której, obok komórek śródbłonka naczyń włosowatych oraz błony podstawnej, wchodzi podocyty - wysoko wyspecjalizowane komórki epitelialne otaczające naczynia włosowate kłębuszka nerkowego. Zaburzenia w prawidłowym funkcjonowaniu podocytów najczęściej prowadzą do cofania bogatych w filamety aktynowe wypustek stopowatych i rozwoju albuminurii. W zaawansowanym stadium DN dochodzi do nieodwracalnego odłączania podocytów od kłębuszkowej błony podstawnej i ich utraty wraz z moczem. Dlatego też poznanie mechanizmów prowadzących do uszkodzenia podocytów, a tym samym wpływających na funkcję nerki, pozwala na zaprojektowanie terapii celowanej molekularnie u chorych na DN.

Podocyty są komórkami wrażliwymi na działanie insuliny, która determinuje ich morfologię oraz funkcję. Insulina jest głównie odpowiedzialna za regulację dokomórkowego transportu glukozy poprzez aktywację procesu translokacji transporterów glukozowych typu 4 (GLUT4) z cytoplazmy do błony komórkowej. Kinaza białkowa aktywowana przez AMP (AMPK), która jest sensorem i regulatorem równowagi energetycznej, również bierze udział w insulinozależnej regulacji dokomórkowego transportu glukozy w podocytach. Insulina jest jednym z czynników zwiększających ilość kanałów wapniowych TRPC6 w błonie komórkowej podocytów. Zauważono, iż w wielu zaburzeniach związanych z opornością na insulinę aktywność AMPK ulega osłabieniu, zaś u osób ze stwierdzoną DN wykazano zwiększoną ekspresję TRPC6. Wydaje się więc, że zahamowanie insulinozależnego transportu glukozy w cukrzycy może być związane z zaburzeniami w homeostazie wapnia, które mogą prowadzić do zmniejszenia aktywności AMPK. Wydaje się zatem zasadnym zbadanie, czy ścieżka sygnałowa TRPC6-AMPK jest zaangażowana w insulinozależny dokomórkowy transport glukozy oraz reorganizację cytoszkieletu, który warunkuje translokację GLUT4 do błony komórkowej podocytów.

Insulina, poprzez oddziaływanie na białka zaangażowane w regulację dynamiki cytoszkieletu, wpływa na przepuszczalność kłębuszkowej bariery filtracyjnej. Kinaza białkowa G typu Ia (PKGI α) jest zaangażowana w przenoszenie sygnału generowanego przez insulinę do cytoszkieletu aktywnego powodując jego reorganizację, a co za tym idzie zmianę w przepuszczalności bariery filtracyjnej kłębuszka. Białko VASP bierze udział w regulacji dynamiki filamentów aktynowych. Ponadto, jest substratem dla PKGI α , a poziom fosforylacji białka VASP (w pozycji Ser239) jest miarą stopnia aktywacji PKGI α . Rola białka VASP w funkcjonowaniu podocytów oraz regulacji kłębuszkowej bariery filtracyjnej jest słabo poznana. Dlatego celem niniejszej rozprawy doktorskiej jest określenie roli białka VASP i jego ufosforylowanej formy w funkcjonowaniu podocytów, a także wpływ białka VASP na PKGI α -zależną regulację cytoszkieletu aktywnego i jego rola w przepuszczalności bariery filtracyjnej podocytów w warunkach normo- i hiperglikemicznych.

Doświadczenia są prowadzone na komórkach podocytarnych wyizolowanych z nerek szczurów rasy Wistar i hodowane w warunkach standardowego (SG, 11 mM) i wysokiego (HG, 30 mM) stężenia glukozy przez 5 dni (czas potrzebny do wyindukowania insulinooporności w szczurzych podocytach). W celu określenia roli szlaków sygnalizacyjnych TRPC6-AMPK oraz PKGI α -VASP w funkcjonowaniu podocytów, komórki są transfekowane z użyciem siRNA dla odpowiedniego genu i hodowane w warunkach SG lub HG w obecności wysokiego stężenia insuliny (300 nM) lub modulatorów konkretnych białek w celu zbadania ich udziału w dokomórkowym transporcie glukozy, reorganizacji cytoszkieletu aktywnego i przepuszczalności bariery filtracyjnej podocytów.

Otrzymane wyniki pozwolą na lepsze poznanie molekularnych i komórkowych mechanizmów wpływających na funkcjonowanie podocytów i ich rolę w regulacji kłębuszkowej bariery filtracyjnej. Ponadto, poznanie i zrozumienie roli szlaków sygnalizacyjnych w podocytach, a także dokładne zgłębienie zależności pomiędzy poszczególnymi białkami zaangażowanymi w przekazywanie sygnału w podocytach może mieć szczególne znaczenie dla znalezienia nowych mechanizmów rozwoju DN, co pozwoli na zastosowanie skuteczniejszego leczenia farmakologicznego tej choroby.