

Przewlekła choroba nerek (CKD) charakteryzująca się progresywną i nieodwracalną utratą funkcji nerek, ze względu na wzrastającą lawinowo zachorowalność, jest zaliczana do chorób cywilizacyjnych XXI wieku. Co jednak zaskakujące, najczęstszą przyczyną zgonów w tej grupie chorych, są incydenty sercowo-naczyniowe, takie jak zawał mięśnia sercowego lub udar, będące wynikiem szybko postępującej miażdżycy. Co więcej, poziom tego ryzyka wzrasta wraz z postępowaniem choroby i jest wielokrotnie wyższy w porównaniu z „klasyczną” chorobą sercowo-naczyniową (CVD) niezwiązaną z chorobą nerek. Nie ulega wątpliwości, że zarówno miażdżycy niezwiązanej jak i związanej z CKD jest przewlekłym procesem zapalnym charakteryzującym się uszkodzeniem śródbłonna tętnic. W tych zaburzeniach immunologicznych istotną rolę odgrywają limfocyty i makrofagi oraz wytwarzane przez nie cytokiny prozapalne. Jednak kilka lat temu zwrócono również uwagę na subpopulację limfocytów, zwanych komórkami NKT oraz ich rolę w patogenezie miażdżycy. Niemniej jednak, dokładny mechanizm działania komórek NKT nie został dotąd poznany. Co więcej, rola komórek NKT w CKD oraz progresji miażdżycy z nią związanej, jest zupełnie nieznaną.

Fosforylacja białek to proces polegający na przyłączeniu do białka reszty fosforanowej, przeprowadzany przez enzymy zwane kinazami. Reakcja fosforylacji białek pełni bardzo istotną funkcję regulatorową wpływającą na aktywności komórek i ich homeostazę. Fosforylacje białek odgrywają również niebagatelną rolę w aktywacji leukocytów oraz ich zdolności do adhezji i migracji przez śródbłonek naczyń krwionośnych. Nasze poprzednie badania wykazały, że leukocyty pacjentów z CKD różnią się funkcjonalnie, pod względem dynamiki procesów adhezji i transmigracji, od leukocytów chorych z „klasyczną” CVD. Zidentyfikowaliśmy szereg białek biorących udział w transdukcji sygnałów w procesie transmigracji, których poziom był istotnie zaburzony w CKD, a których aktywność jest modulowana właśnie przez procesy fosforylacji i defosforylacji białek. Potwierdziliśmy również, że komórki NKT biorą udział w obserwowanych zaburzeniach. Sugerujemy, że przyczyną deregulacji procesów aktywacji, adhezji i migracji leukocytów, są zmiany w mechanizmie fosforylacji białek odpowiedzialnych za inicjację i kontrolę tych procesów. Zaburzenia te mogą być indukowane poprzez wpływ toksyn mocznicowych obecnych w krwi pacjentów z CKD, które wskutek zaburzeń funkcji nerek nie są usuwane z krwioobiegu i działają zarówno na krążące leukocyty, jak i komórki śródbłonna naczyń. W efekcie obserwujemy intensyfikację procesów zapalnych i tym samym przyspieszenie procesów miażdżycorodnych w CKD.

Aby zweryfikować te hipotezy, planujemy przeprowadzić kompleksową analizę fosfoproteomiczną komórek NKT w przewlekłej chorobie nerek w kontekście roli mechanizmów fosforylacji w progresji miażdżycy. Scharakteryzujemy wpływ toksyn mocznicowych na profil fosforylacji białek w komórkach NKT i sygnalizację regulującą ich zdolności adhezyjne i migracyjne. Planujemy również ocenić czy zaobserwowane zmiany mogą być odwracalne. Pragniemy prześledzić czy zaburzenia fosforylacji białek w komórkach NKT mają związek z progresją zarówno CKD jak i „klasycznej” CVD. Wskażemy zdarzenia oparte na mechanizmie fosforylacji charakterystyczne dla przyspieszonego rozwoju miażdżycy w CKD. Zrozumienie roli komórek NKT w kontekście zmian fosforylacji białek, leżących u podstaw mechanizmu stanu zapalnego i progresji miażdżycy, może być kluczowe dla pełnej interpretacji procesów patologicznych zachodzących w CKD.

Zaproponowane przez nas badania mają charakter nowatorski, a proponowana metodyka oparta jest o bardzo nowoczesne rozwiązania. Dotychczas nie przeprowadzono badań nad fosforylacją białek w komórkach NKT. Ponadto, do tej pory nie scharakteryzowano roli komórek NKT w progresji CKD oraz miażdżycy z nią związanej. W proponowanym projekcie zostaną przeprowadzone funkcjonalne mechanistyczne analizy na komórkach *in vitro*, a następnie kompleksowe badania molekularne z zakresu fosfoproteomiki. Wyniki zostaną zwizualizowane z użyciem mikroskopii konfokalnej i cytometrii przepływowej oraz zweryfikowane metodami immunologicznymi i transkryptomycznymi. Takie systemowe podejście w badaniach roli komórek NKT oraz procesów fosforylacji białek w rozwoju CKD nie było do tej pory prezentowane w opublikowanych pracach. Wyniki uzyskane w ramach realizacji niniejszego projektu wpłyną istotnie na poszerzenie naszej wiedzy o mechanizmie progresji miażdżycy w przewlekłej chorobie nerek.