

Rola receptora dla mineralokortykoidów w regulacji aktywności wydzielniczej komórek korykotropowych przysadki przez glikokortykosteroidy i jej znaczenie w chorobie Cushinga

Glukokortykoidy to hormony steroidowe wydzielane przez nadnercza, które odgrywają istotną rolę w regulacji różnych procesów fizjologicznych. Działają one poprzez wiązanie się do dwóch białek wewnątrzkomórkowych - receptorów glukokortykoidowego (GR) i mineralokortykoidowego (MR). Receptory te są obecne w komórkach różnych tkanek organizmu i wywołują specyficzne dla tkanek działanie glukokortykoidów. Oba receptory działają jako czynniki transkrypcyjne - białka regulujące ekspresję genów. Po aktywacji tworzą dwubiałkowe kompleksy (dimery) złożone z dwóch cząsteczek GR lub MR (homodimery) lub heterodimery złożone z GR i MR. Skład dimeru działającego jako aktywny czynnik transkrypcyjny wpływa na to, które geny są regulowane i wpływa na odpowiedź komórki na glukokortykoidy.

Wydzielanie glikokortykoidów (kortyzolu) przez nadnercza jest ściśle regulowane i wywołane przez ACTH wytwarzany w przysadce. Utrzymujące się wysokie stężenie kortyzolu we krwi powoduje różne objawy kliniczne. Taka hiperkortyzolemia jest często spowodowana neuroendokrynnym guzem korykotropowym przysadki i w takim przypadku jest diagnozowana jako choroba Cushinga (CD). Ujemne sprzężenie zwrotne poprzez oś podwzgórze-przysadka-nadnercza jest odpowiedzialne za negatywną regulację wydzielania glukokortykoidów. Glukokortykoidy działają na podwzgórze oraz bezpośrednio na komórki przysadki (komórki korykotropowe), zmniejszając wydzielanie ACTH. Mechanizm działania glukokortykoidów na komórki przysadki jest słabo poznany, a wpływ MR na funkcjonowanie GR w komórkach korykotropowych jest nieznany. Co ważne, leczenie ukierunkowane na GR jest jedną z opcji terapii CD, jednak bezpośrednie działanie leku na receptory w komórkach korykotropowych przysadki może odgrywać niekorzystną rolę w odpowiedzi na leczenie. Nasze wcześniejsze wyniki dotyczące ekspresji GR i MR w guzach korykotropowych przysadki wskazują, że oba receptory są zaangażowane w regulację wydzielania ACTH. Nasza hipoteza zakłada, że w komórkach korykotropowych przysadki MR modyfikuje działanie GR i wpływa na ujemne sprzężenie zwrotne nadnercza - przysadka.

Badanie ma na celu określenie odpowiedzi komórek korykotropowych przysadki na glikokortykoidy w zależności od obecności wyłącznie GR lub współwystępowania GR i MR w komórce. Szczególny nacisk położony jest na rolę GR w obecności MR lub wyłącznie GR w regulacji ekspresji genów regulowanych przez glukokortykoidy.

Do większości eksperymentów przewidzianych w projekcie wykorzystane zostaną mysie komórki AtT-20/D16v-F2 - jedyna dostępna linia komórkowa wyprowadzona z komórek korykotropowych. Wybrane komórki mają ekspresję receptora GR, ale nie posiadają białka MR. Wariant tych komórek z ekspresją MR zostanie wygenerowany w pierwszym etapie projektu, a następnie oryginalne komórki (tylko z GR) i komórki z obydwojema receptorami zostaną poddane eksperymentom w celu porównania ich odpowiedzi na glukokortykoidy. Istotną częścią badania będzie określenie różnicy w profilu miejsc w genomowym DNA wiążących GR i ekspresji genów w zależności od obecności samego GR lub obu receptorów.

Komórki AtT-20/D16v-F2 są komórkami mysimi, z wielu względów bardzo użytecznymi w badaniach *in vitro*. Ze względu na fizjologiczne różnice międzygatunkowe pomiędzy myszą i człowiekiem, wykorzystanie modelu mysiego stwarza pewne ograniczenia dla ekstrapolacji wyników badania na komórki ludzkie. Z tego powodu część eksperymentów zostanie również przeprowadzona na pierwotnych hodowlach ludzkich komórek korykotropowych uzyskanych z guzów przysadki powodujących chorobę Cushinga. Te eksperymenty będą m.in. obejmować ocenę wpływu syntetycznego modulatora MR (selektywnego antagonisty MR, esaxerenonu) na ludzkie komórki korykotropowe.

Oczekujemy, że wyniki projektu pozwolą opisać wpływ glukokortykoidów na negatywną regulację aktywności wydzielniczej komórek korykotropowych przysadki oraz pokażą różnicę w roli GR i MR. Ponieważ glukokortykoidy odgrywają szczególną rolę w regulacji komórek korykotropowych przysadki w ramach ujemnego sprzężenia zwrotnego, wiedza ta jest istotna dla lepszego zrozumienia mechanizmu leczenia pacjentów z CD antagonistami GR.