

Nefropatia cukrzycowa jest jednym z najpoważniejszych powikłań cukrzycy i staje się wiodącą przyczyną przewlekłej niewydolności nerek związaną z leczeniem nerko zastępczym, czy to dializoterapią, czy też przeszczepem nerki. Do dzisiaj brakuje nam dogłębnej wiedzy na temat wczesnych zmian i progresji choroby nerek w początkowych etapach cukrzycy. Ponadto, obecnie nie ma wiarygodnych markerów do wczesnego wykrywania upośledzonej czynności nerek, co może umożliwić interwencje terapeutyczne w celu zapobiegania lub spowalniania postępu tej choroby. Dwa powszechnie stosowane markery progresji choroby nerek to obniżona szybkość filtracji kłębuszkowej i postępująca albuminuria.

Podstawową jednostką morfologiczną i funkcjonalną nerek jest nefron. W jego strukturze wyróżnia się kłębuszek nerkowy oraz cewki bliższą i dalszą. W kłębuszku pod wpływem ciśnienia hydrostatycznego zachodzi przesączanie osocza przez filtr kłębuszkowy. Proces ten zwany jest filtracją kłębuszkową. Bariere filtracyjną tworzą komórki śródbłonna naczyń włosowatych kłębuszka, błona podstawna oraz warstwa komórek nabłonkowych – podocytów. Bariera filtracyjna funkcjonuje na zasadzie sita molekularnego, ograniczającego przepływ makromolekuł z osocza do moczu w zależności od ich wielkości i ładunku. Komórki podocytarne odgrywają kluczową rolę w prawidłowym funkcjonowaniu bariery filtracyjnej kłębuszków. Oplatając wypustkami kilka naczyń kapilarnych, tworzą strukturę błony szczelinowej, łącząc wypustki stopowate między sobą, z zachowaniem możliwości ciągłego regulowania jej przepuszczalności. W cukrzycy strukturalne uszkodzenia podocytów, błony podstawnej i błony szczelinowej są pierwszymi morfologicznymi wykładnikami rozwijającej się glomerulopatii i albuminurii. Wczesne etapy cukrzycy typu 2 charakteryzują się podwyższonym stężeniem insuliny i glukozy. Oba te czynniki stymulują wytwarzanie reaktywnych form tlenu, co prowadzi do reorganizacji cytoszkieletu aktynowego, rozregulowania ścieżek sygnałowych zależnych od insuliny i w konsekwencji do uszkodzenia kłębuszkowej bariery filtracyjnej. Wykazano również, że insulinooporność prowadzi do rozregulowaniem homeostazy fosforanowo-wapniowej oraz zwapnienia naczyń, natomiast mechanizm ten nie jest poznany, do dzisiaj, w podocytach. Wiadomo także, że ważnym inhibitorem kalcyfikacji jest pirofosforan, którego obecność jest stwierdzona w moczu. Natomiast zakłócenie równowagi między stężeniem zewnątrzkomórkowym pirofosforanu a fosforanem skutkuje kalcyfikacją (wytrącanie się hydroksyapatytu).

Należy tutaj podkreślić, że ciało komórki podocytarnej znajduje się głównie w kłębuszkowym płynie ultrafiltracyjnym, pozbawionym fetuiny, osteopontyny i albuminy, będących inhibitorami kalcyfikacji. Dlatego pirofosforan może, przynajmniej częściowo, przyczynić się do zachowania równowagi fosforanu w płynie ultrafiltracyjnym, zapobiegając tym samym tworzeniu się hydroksyapatytu. Na podstawie powyższych informacji możemy wysunąć hipotezę, że NPP1 i  $\alpha$ Klotho mogą regulować równowagę między stężeniem pirofosforanu i nieorganicznego fosforanu, a w konsekwencji chronić podocyty przed kalcyfikacją i że mechanizm ten może być zaburzony w cukrzycy.

Głównym celem projektu jest zatem określenie roli białek  $\alpha$ Klotho i NPP1 w rozwoju zmian patologicznych w kłębuszkowej barierze filtracyjnej obserwowanych w cukrzycy typu 2, które ostatecznie prowadzą do rozwoju nefropatii cukrzycowej i niewydolności nerek. Projekt badawczy podzielony jest na dwie części: *in vivo* i *in vitro*. Eksperymenty *in vitro* obejmują badania: komórkowych i molekularnych mechanizmów wzajemnego oddziaływania białek  $\alpha$ Klotho i NPP1 w podocytach, homeostazy fosforanowo-wapniowej w tych komórkach, przepuszczalności albuminy przez monowarstwę podocytów, przepuszczalności kłębuszkowej bariery filtracyjnej dla albuminy. Ważną częścią tego projektu będzie również poszukiwanie nowych markerów wczesnej nefropatii cukrzycowej i uszkodzeń podocytów w próbkach moczu pobranych od szczurów ZDSD (charakteryzujących się rozwijającą się cukrzycy typu 2) i od pacjentów z cukrzycą typu 2. Realizacja tego projektu może pomóc w zrozumieniu zaburzeń molekularnych mechanizmów prowadzących do albuminurii i w konsekwencji poznania nowych markerów diagnostycznych do wykrywania wczesnej nefropatii cukrzycowej.