

Barierę filtracyjną kłębuszka nerkowego 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 są wysoko wyspecjalizowanymi, najbardziej zróżnicowanymi komórkami kłębuszka nerkowego. Anatomiczne usytuowanie podocytów okalających kapilary kłębuszków nerkowych sprawia, że są one permanentnie eksponowane na wysokie, pulsacyjne zmiany ciśnienia wewnątrzkapilarnego będącego siłą napędową procesu filtracji kłębuszkowej. Dojrzałe podocyty nie mają zdolności proliferacyjnych, co oznacza, że ich śmierć lub utrata w stanach chorobowych może być dla nerki nieodwracalna w skutkach.

Zaburzenia funkcji podocytów odgrywają kluczową rolę w rozwoju białkomoczu w nefropatii cukrzycowej. Spłaszczenie i zanikanie wypustek stopowych podocytów, które tworzą filtracyjną błonę szczelinową, jest skorelowane z białkomoczem. Do dzisiaj mechanizm ten nie jest dobrze poznany, dlatego też poznanie metabolizmu energetycznego podocytów, zwłaszcza w stanach cukrzycowych, może dostarczyć nowych informacji na temat patogenezy nefropatii cukrzycowej. Wiadomo, że glikoliza i fosforylacja oksydacyjna to dwa główne szlaki komórkowe do wytwarzania energii. Większość komórek może przełączać się między tymi ścieżkami, aby poradzić sobie ze zmieniającymi się wymaganiami energetycznymi. Wiadomo, że metabolizm wewnątrzkomórkowy w obszarze korowym podocytów jest regulowany przez glikolizę, podczas gdy bilans energii w obszarze centralnym jest kontrolowany przez fosforylację oksydacyjną i glikolizę. Ostatnio doniesiono, że wysokie stężenie glukozy powoduje zmianę metabolizmu podocytów z mitochondrialnej fosforylacji oksydacyjnej na glikolizę, co skutkuje kwasicą mleczanową.

Oprócz roli mleczanu jako metabolitu i substratu energetycznego wykazano, że mleczan jest substancją sygnalizacyjną. Po raz pierwszy obecność receptora mleczanowego GPR81 została odkryta w tkance tłuszczowej. Według naszej wiedzy nie ma doniesień, że ten receptor jest obecny w podocytach. Jego obecność wykazaliśmy w naszych badaniach wstępnych. Przypuszczamy, że czujnik metabolizmu mleczanu, którym niewątpliwie jest receptor GPR81 może znacząco przyczyniać się do kontroli funkcji podocytów w zdrowiu i chorobie. Konieczne są więc badania w celu wyjaśnienia, w jaki sposób podocyty regulują metabolizm mleczanu oraz określenie znaczenia zależnego od GPR81 szlaku sygnałowego, zwłaszcza w cukrzycy. Głównym celem projektu będzie zatem określenie roli mleczanu i jego receptora GPR81 w rozwoju zmian patologicznych w kłębuszkowej barierze filtracyjnej obserwowanych w cukrzycy typu 2, które ostatecznie prowadzą do nefropatii cukrzycowej i w końcowym stadium do niewydolności nerek.

Projekt badawczy jest podzielony na dwie części: *in vivo* i *in vitro*. W badaniach *in vivo* użyjemy szczurów rasy ZDSD. Model ZDSD wykazuje progresję cukrzycy typu 2 podobną do choroby u ludzi - stan przedcukrzycowy (w wieku 8-16 tygodni), jawną cukrzycę (> 16 tygodni), powikłania cukrzycowe (24 tygodnie). W doświadczeniach *in vitro* użyjemy kłębuszki nerkowe i podocyty wyizolowane ze szczurów rasy Wistar. Podocyty do różnych doświadczeń będą hodowane w pożywce o normalnym lub wysokim stężeniu glukozy przez 5 dni. Ostatnio wykazaliśmy, że podocyty inkubowane przez 5 dni w wysokiej glukozie wykazują insulinoporność. Eksperymenty w części *in vitro* skupią się na zbadaniu: i) przepuszczalności bariery kłębuszkowej dla albuminy, ii) przepuszczalności dla albuminy przez monowarstwę podocytów, iii) komórkowych i molekularnych mechanizmów metabolizmu mleczanu i zależnych od GPR81 szlaków sygnałowych w komórce podocytarnej.

Przeprowadzone doświadczenia dostarczą nowych danych dotyczących roli regulacji homeostazy mleczanu i regulacji czujnika metabolicznego GPR81 w biologii podocytów. Ponadto zidentyfikujemy potencjalnie ważny nowy mechanizm, który może być zaburzony w trakcie rozwijającej się cukrzycy i w konsekwencji wpływać na przepuszczalność kłębuszkowej bariery filtracyjnej.