

POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU

Kłębuszek nerkowy to sieć tętniczych naczyń włosowatych, który wraz z otaczającą je torebką Bowmana wchodzi w skład podstawowej jednostki filtracyjnej nerek – nefronu. W skład filtru kłębuszkowego wchodzi komórki śródbłonna kłębuszkowych włosniczek, błona podstawna oraz wysoko wyspecjalizowane i ostatecznie zróżnicowane komórki podocytarne (podocyty), które utrzymują strukturę i funkcję filtru kłębuszkowego. Podobnie jak komórki nerwowe, podocyty nie ulegają podziałom komórkowym. Komórki te posiadają bogate w aktywny wypustki stopowe zakotwiczone w błonie podstawnej i przedzielone szczelinami filtracyjnymi szerokości 20–30 nm, których brzegi łączy błona szczelinowa. W zdrowym kłębuszku nerkowym bariera filtracyjna uniemożliwia przedostanie się do moczu makrocząsteczkom takim jak białka, natomiast jest przepuszczalna dla wody i małych cząsteczek. Uszkodzenie podocytów prowadzi do białkomoczu, cechy charakterystycznej dla większości chorób kłębuszka nerkowego. Utrata podocytów jest wczesnym i kluczowym objawem rozwoju nefropatii cukrzycowej, chronicznej, postępującej choroby, rozwijającej się u co najmniej 40% pacjentów chorych na cukrzycę. W zaawansowanym stadium choroby konieczna jest dializoterapia, a nawet przeszczep narządu, co wiąże się z rosnącymi kosztami leczenia.

Ostatnie badania wykazały, że glikoliza beztlenowa, w której glukoza jest przekształcana w pirogronian, a następnie w mleczan, jest głównym szlakiem metabolicznym podocytów. Prawidłowy metabolizm i regulacja stanu energetycznego podocytów są kluczowe w utrzymaniu struktury i funkcji tych komórek w nerkach. Jednak coraz więcej dowodów wskazuje, że wysokie stężenie glukozy we krwi, obserwowane w cukrzycy, prowadzi do zaburzeń metabolizmu podocytów i zmniejsza wrażliwość tych komórek na insulinę, znoszący stymulujące działanie tego hormonu na dokomórkowy transport glukozy oraz powodując zaburzenia funkcji tych komórek, manifestujące się zwiększeniem przepuszczalności warstwy podocytów dla albuminy.

Utrzymanie wewnątrzkomórkowej homeostazy glukozy jest istotne z punktu widzenia utrzymania równowagi energetycznej i metabolicznej komórki, zatem kluczowe jest prawidłowe działanie mechanizmów regulujących endogenną produkcję glukozy oraz stopień jej wykorzystania przez komórki. Na endogenną produkcję glukozy składają się dwa procesy: degradacja glikogenu w procesie glikogenolizy oraz synteza glukozy *de novo* w procesie glukoneogenezy. W stanach hiperglikemii, w wyniku różnych procesów patogennych, wśród których wymienia się zaburzenia aktywności enzymów syntezy i degradacji glikogenu, stwierdzono odkładanie się glikogenu w nerkach. Według naszej wiedzy, jak dotąd nie wykazano zdolności podocytów do produkcji glukozy, a także nie są poznane mechanizmy regulujące metabolizm glikogenu, jak również rola samego glikogenu w tych komórkach. W badaniach wstępnych wykazaliśmy istotny wzrost zawartości glikogenu oraz zwiększoną aktywność kluczowego enzymu glukoneogenezy w podocytach eksponowanych na wysokie stężenia glukozy. Nasza hipoteza badawcza zakłada, że osłabione hiperglikemią działanie insuliny może prowadzić do zwiększonej produkcji glukozy i akumulacji glikogenu w podocytach. W proces ten mogą być zaangażowane enzymy kluczowe dla kontroli metabolicznej komórek, takie jak białkowa deacetylaza SIRT1 i zależna od AMP kinaza białkowa AMPK, których aktywności są zmniejszone w podocytach z wyindukowaną hiperglikemią insulinoopornością. Zakładamy, że spowodowane wysokim stężeniem glukozy zaburzenie aktywności SIRT1-AMPK może być związane z zakłóceniem insulinozależnej regulacji metabolizmu glikogenu i produkcji glukozy w podocytach, tym samym zaburzając homeostazę glukozy i stan energetyczny tych komórek. Głównym celem projektu jest zbadanie wpływu hiperglikemii na metabolizm glikogenu i glukoneogenezę w podocytach oraz zależnych od SIRT1-AMPK mechanizmów regulacji tych procesów, jak również analiza ich zaburzenia spowodowanego hiperglikemią.

Planowane badania podzielono na dwie części: *in vivo* i *in vitro*. W badaniu *in vivo* wykorzystany zostanie szczurzy model ZDF, szeroko stosowany w badaniach cukrzycy typu 2 i nefropatii cukrzycowej. W doświadczeniach *in vitro* stosowane będą podocyty izolowane z nerek szczurów Wistar, oraz unieśmiertelniona linia komórkowa ludzkich podocytów. Podjęte badania molekularne, biochemiczne i czynnościowe będą miały na celu zbadanie wpływu hiperglikemii na metabolizm glikogenu i regulację glukoneogenezy w podocytach oraz mechanizm regulacji tych procesów zależny od SIRT1-AMPK. Zrozumienie tych mechanizmów może dostarczyć dalszych informacji na temat patogenezy choroby kłębuszków nerkowych i wskazać nowe cele terapeutyczne w leczeniu glomerulopatii w cukrzycy. Efekty naszego badania powinny przybliżyć nas do zrozumienia zmian zachodzących w przebiegu nefropatii cukrzycowej, prowadzących w końcowej fazie do upośledzenia czynności nerek i ich niewydolności.