

Długotrwale podwyższone stężenie glukozy we krwi (cukrzyca lub hiperglikemia) prowadzi do poważnych zmian w nerce, zarówno w naczyniach krwionośnych, jak i w kanalikach upośledzając jej funkcje, co w konsekwencji może prowadzić do całkowitej niewydolności narządu (nefropatia cukrzycowa). Dysfunkcja nerek w cukrzycy (DM) może być następstwem m.in. zmian w produkcji i aktywności czynników lokalnych (parakrynych) np. adenozyiny (Ado, produktu rozkładu ATP), czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF) lub wzmożonym uwalnianiem wolnych rodników (stres oksydacyjny). Ponadto, w cukrzycy dochodzi do zmian w ekspresji zależnych od Ado receptorów purynowych P1, które zaangażowane są w utrzymanie napięcia ścian naczyń nerkowych oraz procesy transportu kanalikowego. Z danych literaturowych wynika, że w stanach patologicznych dochodzi do zwiększenia ekspresji receptorów podtypu A2B (P1R-A2B), ale wykazywano, że hiperglikemia może wpływać różnorodnie, też w sposób przeciwny, co może istotnie wpływać na efekty Ado zarówno na nerkowe krążenie krwi, jak i czynność wydalniczą.

W projekcie zastosujemy model zwierzęcy cukrzycy wywołanej streptozotocyną (STZ) u początkowo normoglikemicznych szczurów, który odpowiada ludzkiej cukrzycy typu 1. STZ, na który szczególnie wrażliwe są komórki beta trzustki, powodując ich uszkodzenie (destrukcja DNA), ogranicza produkcję insuliny wywołując wzrost stężenia glukozy we krwi. Planując badania opisane w projekcie wzięliśmy pod uwagę obiecujące wyniki naszych badań wstępnych u szczurów z eksperymentalnie indukowaną cukrzycą podczas ostrej, krótkotrwałej donerkowego podania aktywatora (agonisty) receptorów A2B dotyczące zmiany wewnątrznerkowej regulacji ukrwienia oraz czynności wydalniczej nerki. Postulujemy, że długotrwale dostarczanie agonisty P1R-A2B do nerki u zwierząt z cukrzycą może chronić nerki przed pogorszeniem ich funkcji.

W badaniach użyjemy szczurów kojarzonych z unikaniem pokrewieństwa, a więc pochodzących ze zróżnicowanej populacji zwierząt, u których możemy spodziewać się odpowiedzi na zastosowany bodziec w sposób podobny, jak w populacji ludzkiej (rozkład normalny, wg krzywej Gaussa). U tych zwierząt zbadamy wpływ przewlekłego podawania agonisty receptora P1-A2B uwalniającego się z uprzednio wszczepionych na powierzchnię nerki włókien elektroprzędzonych. Przed wszczepieniem przygotujemy pakiet mikrowłókien, w których podczas ich przedzenia zostanie umieszczona badana substancja. W trakcie realizacji projektu oceniane będą:

- (1) metabolizm podstawowy zwierząt podstawowe parametry metaboliczne zwierząt, funkcja wydalnicza nerek oraz wydalanie w moczu czynników stresu oksydacyjnego i białek (białkomocz; umożliwi to ocenę uszkodzenia nerek, szczególnie kłębuszków nerkowych); badania u zwierząt czuwających;
- (2) u zwierząt w narkozie, przygotowanych chirurgicznie do doświadczenia, oceniane będą jednocześnie krążenie ogólnoustrojowe i funkcje nerek: zmiany całkowitego przepływu krwi i zmiany ukrwienia lokalnego (kora, rdzeń nerki) i wydalanie, a także zmiany stężenia wolnych rodników w rdzeniu i korze nerki *in situ* (odpowiednie czujniki selektywne dla wolnych rodników);
- (3) przy zastosowaniu nowoczesnej techniki, wykorzystującej do badań przyżyciowych (*in vivo*) konfokalną mikroskopię laserową systemu *Cellvizio® Dual Band* oceniana będzie średnica oraz gęstość korowych naczyń krwionośnych, u tych samych osobników przed rozpoczęciem i po zakończeniu przewlekłego podawania agonisty P1R-A2B;
- (4) wykorzystując połączenie uznanych technik do pomiarów zmian ukrwienia (przepływu krwi) oraz możliwości systemu *Cellvizio® Dual Band* oceniana będzie reaktywność (sztywność) naczyń krwionośnych nerki w odpowiedzi na substancje naczynioaktywne (kurczące lub rozszerzające naczynia).

Zaburzenia czynności nerek, także te związane z upośledzeniem krążenia wewnątrznerkowego, są przyczyną wielu stanów patologicznych, w tym nadciśnienia tętniczego. Utrzymująca się przez dłuższy czas hiperglikemia zwiększa takie ryzyko. Można oczekiwać, że zbadanie roli P1R-A2B (ulegają zmianie w cukrzycy) pozwoli rozszerzyć możliwości terapii cukrzycy i nadciśnienia (choroby cywilizacyjne). Zaplanowane badania są szansą na dokładniejsze zrozumienie patomechanizmu cukrzycy oraz lepszego zrozumienia roli receptorów P1-A2B. Wyniki uzyskane w ramach niniejszego projektu dostarczą wiedzy na temat skuteczności wczesnego leczenia nefroprotektynowego agonistą P1R-A2B. Wyniki badań umożliwią zaplanowanie badań przedklinicznych dotyczących leczenia upośledzenia funkcji nerek w cukrzycy, a także nadciśnienia związanego z wysokim poziomem glikemii i zaburzeniami czynności nerek.