

Nefropatia cukrzycowa (NC) jest mikronaczyniowym powikłaniem cukrzycy i główną przyczyną niewydolności nerek wymagającej terapii nerkozastępczej. Pomimo intensywnych badań nad patogenezą NC, mechanizmy prowadzące do rozwoju tego powikłania są nadal niejasne. Klinicznie NC objawia się postępującym białkomoczem, wynikającym z nieprawidłowej funkcji podocytów – komórek, stanowiących zewnętrzną warstwę bariery filtracyjnej kłębuszków nerkowych. Powszechnie przyjmuje się, że uszkodzenie podocytów jest główną przyczyną dysfunkcji filtracji kłębuszkowej i cechą charakterystyczną NC. Istnieją różne mechanizmy prowadzące do uszkodzenia podocytów, wynikające przeważnie z przewlekłej hiperglikemii. Jednym z nich jest rozregulowany metabolizm lipidów, który charakteryzuje się nieprawidłowym metabolizmem cholesterolu, zwiększonym wychwytem i syntezą lipidów, akumulacją wewnątrzkomórkowych kropeł lipidowych oraz zaburzeniem homeostazy biologicznie czynnych sfingolipidów. Wszystkie te procesy wywołują stres oksydacyjny, stan zapalny i śmierć komórek, prowadząc do dysfunkcji bariery filtracyjnej kłębuszków nerkowych i niewydolności czynnościowej nerek.

Istnieje złożony związek między metabolizmem lipidów a dynamiką mitochondriów (ich biogenezą, fuzją i podziałem oraz mitofagią) w podocytach, lecz niewiele wiadomo na temat mechanizmów regulacji wzajemnego oddziaływania szlaków lipidowo-mitochondrialnych, zwłaszcza w cukrzycy. Analizy lipidomiczne moczu pacjentów z otyłością i chorobą nerek wykazały podwyższony poziom kwasów tłuszczowych o nieparzystej ilości węgla w łańcuchu, które mogą być produktami katabolizmu rozgałęzionych aminokwasów (z ang., *branched-chain amino acids*, BCAA), waliny, leucyny i izoleucyny. Podwyższony poziom BCAA w osoczu jest również związany z otyłością i cukrzycą typu 2. Sugeruje to, że BCAA lub pochodne ich przemian mogą być nadrzędnymi regulatorami metabolizmu lipidów w nerkach osób chorych na cukrzycę.

Kwas β -aminoizomasłowy (BAIBA) to produkt metabolizmu BCAA i niebiałkowy aminokwas wytwarzany w mitochondriach i wydzielany przez mięśnie szkieletowe podczas wysiłku. Wykazano, że BAIBA reguluje metabolizm węglowodanów i lipidów w adipocytach, zwiększa wrażliwość mięśni szkieletowych na insulinę oraz chroni osteocyty przed apoptozą zależną od reaktywnych form tlenu (RFT). Jednak nie ma jeszcze doniesień literaturowych na temat potencjalnej roli sygnalizacji BAIBA w podocytach i jej możliwym wpływie na homeostazę mitochondrialną i lipidową w tych komórkach w kontekście NC. Nasze wstępne badania wykazały, że podocyty posiadają receptor dla BAIBA (z ang., *Mas-related G protein-coupled receptor type D*; MRGPRD), a zastosowanie BAIBA w hodowli podocytów znacząco poprawia oddychanie komórkowe, produkcję ATP i biogenezę mitochondrialną. Według naszej najlepszej wiedzy jest to pierwszy eksperymentalny dowód na obecność MRGPRD i jego odpowiedź na stymulację BAIBA w podocytach. Ponadto, pokazujemy nowy mechanizm regulacji dynamiki mitochondrialnej w podocytach, który dotyczy aktywacji receptora MRGPRD przez L-BAIBA i jego wpływu na biogenezę mitochondriów. **Stąd głównym celem tego projektu jest głębsze zbadanie molekularnych mechanizmów wpływu BAIBA na metabolizm lipidów i funkcje mitochondrialne w podocytach i nerkach w cukrzycy.** Z wykorzystaniem uniesmiertelnionych ludzkich podocytów wyjaśnimy rolę receptora BAIBA w środowisku normo- i hiperglikemicznym. W tych komórkach zbadamy metabolizm BAIBA poprzez analizę poziomów ekspresji i aktywności głównych enzymów biorących udział w jego produkcji. Wcześniejsze badania wykazały pozytywny wpływ BAIBA na metabolizm lipidowy, który obejmuje syntezę i degradację lipidów, ich transport przez błonę i magazynowanie wewnątrzkomórkowe. Jednak nie przeprowadzono jeszcze badań w celu wyjaśnienia możliwego wpływu BAIBA na metabolizm lipidów i wrażliwość na insulinę w podocytach. Stąd, w niniejszym projekcie zbadamy poziom ekspresji i/lub aktywność niektórych kluczowych białek zaangażowanych w transport lipidów (np. transporter wypływu cholesterolu ABCA1, transporter LDL CD36), β -oksydację kwasów tłuszczowych (np. PPAR α , ACADM, ACOX1/2) i lipolizę (np. perilipin 5, ATGL) w podocytach hodowanych w środowisku o wysokim stężeniu glukozy (HG) suplementowanym BAIBA. Zbadamy również parametry mitochondrialne w tych komórkach: wydolność oddechową (pomiar szybkości zużycia tlenu), wielkość i kształt mitochondriów (za pomocą analiz bioinformatycznych zdjęć mikroskopowych wybarwionych fluorescencyjnie mitochondriów), ilość mitochondriów (pomiar poziomu ekspresji mitochondrialnego DNA za pomocą Real-Time PCR), ekspresję markerów biogenezy mitochondriów PGC-1 α i TFAM oraz markera mitofagii PINK1.

Z wykorzystaniem zwierzęcych modeli cukrzycy zbadamy możliwość wykorzystania BAIBA do polepszenia uszkodzenia nerek, co może otworzyć perspektywy nowej strategii leczenia NC. Dodatkowo, biorąc pod uwagę korzystny wpływ aktywności fizycznej w terapii i zapobieganiu cukrzycy, indukowany wysiłkiem BAIBA może polepszać efekty kliniczne NC, np. dzięki aktywacji biogenezy mitochondriów i właściwościom antyoksydacyjnym. Wykazano również, że metformina (MTF), popularny lek przeciwcukrzycowy, poprawia dynamikę mitochondriów w nerkach i zmniejsza poziom RFT. Mimo licznych badań na nerkach i podocytach, mechanizmy molekularne działania MTF są nadal niejasne. Mając na uwadze podobne efekty działania MTF i BAIBA na poziomie komórkowym, postaramy się zdefiniować ich potencjalne wzajemne oddziaływania w kontekście funkcji nerek w cukrzycy. Na koniec wyjaśnimy potencjał diagnostyczny poziomu BAIBA w osoczu i moczu u pacjentów cukrzycowych. Wszystkie te badania nie tylko wyjaśnią rolę BAIBA i jego receptora w biologii podocytów, ale także zdefiniują znaczenie sygnalizacji i metabolizmu BAIBA w rozwoju NC. Wyniki projektu określą potencjał BAIBA lub BAIBA+MTF w kontekście terapii lub profilaktyki NC, a także wyjaśnią, czy BAIBA może stanowić użyteczny biomarker w diagnostyce i ocenie progresji cukrzycowej choroby nerek.