

Celem projektu jest zbadanie kompensacyjnej roli szlaku MNA/COX-2/PGI2 w toku rozwoju dysfunkcji ródóbłnka i upo ledzenia aktywno ci NO oraz zbadanie skutków farmakologicznej jego aktywacji na aktywno płytek krwi w mysim modelu niedoboru ródóbłnkowego NO.

1-methylo-nikotynamid (MNA) jest metabolitem nikotynamidu (NA) powstajacym przy udziale metylotransferazy nikotynamidu (NNMT) w w trobie. MNA podawany egzogennie wywołuje działanie przeciwwzkrzepowe i przeciwzapalne przez mechanizmy zale ne od COX-2/PGI2, a podwy szone st enie endogenne MNA w przebiegu dysfunkcji ródóbłnka towarzyszy cej mia d ycy czy zapaleniu w troby wskazuje na znaczenie kompensacyjne tej cz steczki. Prostacyklina (PGI2) jest mediatorem lipidowym , jednym z najsilniejszych endogennych inhibitorów aktywacji płytek krwi syntetyzowanym z kwasu arachidonowego z uczestnictwem enzymu cyklooksygenazy-2 (COX-2).

Stawiamy hipotez , e endogenne MNA jest regulatorem aktywno ci układu COX-2/PGI2 i stanowi istotny mechanizm kompensacyjny uruchamiany wobec upo ledzenia wydzielania ródóbłnkowego tlenu azotu (NO) b d tego głównym mediatorem ródóbłnka. NO poza aktywacj komórek mi niowych naczy krwiono nych do rozkurczu i wieloma innymi wa nymi działaniami naczynioprotekcyjnymi, zapobiega tak e adhezji oraz agregacji płytek krwi do komórek ródóbłnka i przez to przeciwdziała powstawaniu zakrzepów wewn trznacyniowych oraz dysfunkcji ródóbłnka.

Niniejszy projekt ma na celu zweryfikowanie tej hipotezy z wykorzystaniem mysiego modelu nadci nienia wywołanego przez farmakologiczne zahamowanie syntezy NO. Zbadany zostanie wpływ niedoboru NO na zmiany aktywno ci szlaku MNA/COX-2/PGI2 w oparciu o pomiary st enia MNA i jego metabolitów (2-Met-PY, 4-Met-PY), profilu eikozanoidów w osoczu i w moczu w odniesieniu do zmian aktywno ci płytek krwi, która b dzie badana w oryginalnym eseju w pełnej krwi ex vivo. Zbadanie aktywno ci płytek krwi i równoczesny pomiar metabolitów PGI2, dostarczy informacji o zmianach aktywno ci biologicznej PGI2 uruchamianej w wyniku zahamowania produkcji NO. Badania przeprowadzone b d w toku rozwoju nadci nienia wywołanego przez farmakologiczny niedobór NO, jak i po podaniu zwi zków b d cych egzogennym ródłem MNA (MNAC1) lub MNA i NO (MNANO2, MNANO3, c2913).

Wa nym elementem tego projektu b dzie opracowanie metody analizy ilo ciowej oznaczania wybranych eikozanoidów w moczu oraz w osoczu, a tak e przeprowadzenie walidacji metody. Ponadto, wyniki zebrane w toku realizacji tego projektu pozwol na podj cie próby modelowania PK/PD, obejmuj cego integrowanie danych farmakokinetycznych, biochemicznych i farmakodynamicznych opisuj cych działanie badanych zwi zków, a zarazem aktywno dwóch badanych szlaków – zale nego od NO i zale nego od PGI2. Podstaw do modelowania PK/PD od strony biochemicznej b d biomarkery aktywacji szlaku zale nego od NO (NO₂⁻, NO₃⁻) oraz biomarkery zale ne od szlaku MNA/COX-2/PGI2 (6-keto-PGF1 , MNA, 2-Met-PY, 4-Met-PY) analizowane w osoczu. Natomiast od strony biologicznej - aktywacja płytek krwi w warunkach ex vivo, która odzwierciedla zarówno działanie NO (przez mechanizmy zale ne od cGMP), jak i PGI2 (przez mechanizmy zale ne od cAMP) a zostanie ona zbadana na podstawie st enia TXB2.

Realizacja projektu pozwoli na zrozumienie współzale no ci pomi dzy aktywno ci szlaku MNA/COX-2/PGI2, a stanami ró nego stopnia upo ledzenia biodost pno ci ródóbłnkowego NO w rozwoju nadci nienia t tniczego krwi u myszy. Nowatorskim aspektem zaproponowanego projektu jest zastosowanie substancji b d cych egzogennym ródłem MNA i NO których zastosowanie pozwoli na regulacj biodost pno ci MNA i co za tym idzie aktywno ci COX-2/PGI2, oraz zwi kszenie biodost pno ci NO u myszy z niedoborem NO. Chocia znany jest fakt, e MNA ma działanie przeciwwzkrzepowe oraz przeciw płytkowe poprzez aktywacj układu COX-2/PGI2, jednak e, jak dot d nie ma bada które próbowały by opisa relatywne znaczenie układu zale nego od NO i od MNA/COX-2/PGI2 w regulacji aktywno ci płytek krwi w stanach o ró nym stopniu upo ledzenia biodost pno ci ródóbłnkowego NO.

Niniejszy projekt o charakterze interdyscyplinarnym, obejmuj cy badania analityczne, farmakokinetyczne i farmakologiczne pozwoli nie tylko na opracowanie nowych metod (profilowanie eikozanoidów LC/MS/MS) i rozwój nowych narz dzi badawczych (modelowanie PK/PD), ale przede wszystkim przyczyni si do lepszego zrozumienia kompensacyjnej roli szlaku MNA/COX-2/PGI2 uruchamianego w toku rozwoju dysfunkcji ródóbłnka i post puj cego zmniejszenia biodost pno ci NO. Na podstawie wyników planowanych bada przeprowadzonych podczas realizacji projektu, b dziemy mogli odpowiedzie na pytanie czy MNA jest regulatorem aktywno ci układu COX-2/PGI2 i czy jego podniesione endogenne st enie stanowi istotny mechanizm kompensacyjny uruchamiany wobec upo ledzenia wydzielania ródóbłnkowego NO oraz zbadamy jaka jest jego funkcjonalna rola w odniesieniu do regulacji czynno ci płytek krwi. Realizacja projektu pozwoli na zrozumienie nowych mechanizmów, które mog mie znaczenie w dysfunkcji ródóbłnka naczyniowego a przez to w rozwoju chorób sercowo-naczyniowych.