

Zaburzenia ze strony śródbłonna naczyniowego towarzyszą większości chorób człowieka albo jako ich pierwotna przyczyna albo w następstwie innych schorzeń, wśród których insulinooporność przechodząca w cukrzycę należy do najczęstszych. Nielezione zaburzenia śródbłonkowe prowadzą do poważnych a nawet zagrażających życiu komplikacji sercowo-naczyniowych takich jak zawał serca, nefropatia i retinopatia szczególnie częsta w chorych na cukrzycę. Mimo intensywnych badań mechanizmy prowadzące do dysfunkcji śródbłonna, a także naturalne mechanizmy protekcyjne nie są w pełni poznane. Ich zrozumienie może stworzyć szansę na skuteczną terapię. Badania przewidziane w niniejszym projekcie mają charakter podstawowy a ich celem jest wyjaśnienie jednego z potencjalnych mechanizmów aktywowanych w odpowiedzi komórek śródbłonna na stres spowodowany insulinoopornością, indukcją stanu zapalnego oraz działaniem innych czynników zaburzających w różny sposób funkcjonowanie śródbłonna. W piśmiennictwie istnieją dane wskazujące udział enzymu N-metylotransferazy nikotynoamidowej (NNMT) w regulacji metabolizmu energetycznego różnych komórek. Substratem tej reakcji jest nikotynamid, który jest także prekursorem  $NAD^+$ . A zatem w wyniku reakcji katalizowanej przez NNMT może dochodzić do zmniejszenia puli  $NAD^+$ , co z kolei może mieć wpływ na metabolizm energetyczny komórek. Wcześniej wykazano, że produkt reakcji katalizowanej przez ten enzym, 1-metylonikotynamid (MNA), podawany egzogennie wykazuje działanie ochronne na naczynia krwionośne. Nie ma natomiast informacji na temat protekcyjnej funkcji endogenego MNA powstającego w komórkach śródbłonna w wyniku reakcji katalizowanej przez NNMT. Istnieją natomiast dane wskazujące na to, że aktywacja NNMT powoduje wzrost aktywności enzymów zwanych sirtuinami. Enzymy te katalizują odłączanie grupy acetylowej od wielu białek, tym samym mogą regulować ich właściwości. Wiadomo, że sirtuiny wykazują aktywność przeciwzakrzepową i przeciwzapalną a także wpływają stymulująco na metabolizm energetyczny mitochondriów. Stawiamy zatem hipotezę, że zwiększenie aktywności NNMT ma działanie naczynioprotekcyjne poprzez stabilizację/aktywację sirtuin i modyfikację metabolizmu mitochondriów. Celem niniejszego projektu jest weryfikacja tej koncepcji. W świetle dostępnych danych wydaje się wysoce prawdopodobne, że towarzyszy temu zmiana metabolizmu energetycznego mitochondriów i w efekcie całych komórek. Chociaż zagadnienie, którego dotyczy projekt wiąże się z poważnym problemem zdrowotnym, celem niniejszych badań nie jest stworzenie nowej metody terapeutycznej lub wdrożenie leku. Planowane badania mają wyłącznie charakter poznawczy – lecz bez takich badań zrozumienie mechanizmów leżących u podstaw patologii byłoby niemożliwe. W naszych badaniach będziemy wykorzystywać linie komórkowe prawidłowe oraz takie, w których nie dochodzi do powstawania białka - enzymu NNMT. Komórki te będą traktowane kwasem palmitynowym w celu indukcji oporności na insulinę, czynnikiem wywołującym stan zapalny, a także innymi bodźcami zaburzającymi prawidłowe funkcje komórkowe mającymi odniesienie do rzeczywistych sytuacji, jakie mogą wystąpić *in vivo*. Badane będą ilość i aktywność NNMT oraz sirtuin, a także szybkość oddychania komórek oraz wiele innych parametrów świadczących o metabolizmie mitochondriów i kondycji metabolicznej komórek. Ponadto, przeprowadzane będą testy dotyczące typowych funkcji komórek śródbłonna takich jak wytwarzanie cytokin czy białek adhezji komórkowej; to pozwoli na ustalenie fenotypu śródbłonkowego w warunkach stresu. Komórki śródbłonna nie są jednorodne a ich fenotyp zależy od miejsca pochodzenia w organizmie. Dlatego najważniejsze wyniki uzyskane dla jednego rodzaju komórek będą weryfikowane z wykorzystaniem komórek śródbłonna pochodzących z innego narządu. Oczekujemy, że skoordynowane działania dwóch zespołów mających duże i uzupełniające się doświadczenie w prowadzeniu badań metabolicznych i funkcjonalnych nad śródbłonkiem pozwolą na osiągnięcie wyznaczonego celu i wyjaśnienie jednego z mechanizmów leżących u podstaw poważnych i powszechnie występujących patologii.