

Miażdżycowe choroby serca i naczyń, określane terminem „choroba sercowo-naczyniowa” (CVD), są najczęstszą przyczyną zgonów w krajach wysoko-rozwinętych jak i jednym z najbardziej rozpowszechnionych problemów współczesnej medycyny. Miażdżycy jest przewlekłym procesem zapalnym aorty oraz tzw. tętnic średniej wielkości. Histopatologicznie miażdżycowy proces zapalny rozpoczyna się od gromadzenia przestrzeni pomiędzy śródbłonkiem a warstwą mięśniową tętnicy złogów makrofagów, lipoprotein małej gęstości (LDL), komórek piankowych czyli makrofagów obciążonych przez LDL oraz cholesterolu. W dalszych etapach rozwoju choroby dochodzi do tworzenia się tzw. blaszki miażdżycowej, która prowadzi do zwężania i usztywniania naczyń. Zmiany miażdżycowe mogą doprowadzić do zawału mięśnia sercowego, zatoru płucnego jak i udaru mózgu. Wciąż poszukiwane są skuteczne terapie zapobiegające rozwojowi miażdżycy i innych postaci CVD.

Miażdżycy i inne CVD powstają w wyniku działania takich czynników jak hypercholesterolemia, nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, otyłość, palenie papierosów, starzenie i innych tzw. „czynników ryzyka CVD”. Wspólnym elementem ich patomechanizmu jest: (i) zwiększona naczyniowa produkcja reaktywnych form tlenu (ROS, ang. *Reactive Oxygen Species*) takich jak anionorodnik nadtlenkowy ( $O_2^-$ ) i produkt jego dysmutacji nadtlenek wodoru ( $H_2O_2$ ); (ii) zmniejszona biodostępność śródbłonkowego tlenu azotu spowodowana inaktywacją NO przez  $O_2^-$ ; (iii) powstanie toksycznego nadtlenoazotynu - produktu reakcji  $O_2^- + NO \rightarrow ONOO^-$ .

Wolne rodniki tlenowe cechuje duża reaktywność chemiczna - są akceptorami lub donorami elektronu i odpowiednio utleniaczami lub reduktorami. W umiarkowanych stężeniach,  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ , NO i ONOO<sup>-</sup> są substancjami o działaniu sygnalizacyjnym, a dopiero w wyższych stężeniach mają działanie toksyczne. W zdrowych naczyniach dominuje sygnalizacja indukowana przez NO, co skutkuje rozwojem tzw. antymiażdżycowego fenotypu śródbłonka i ściany naczyniowej. Pod wpływem czynników ryzyka CVD, przewagę zyskuje sygnalizacja indukowana przez ROS (stres oksydacyjny) oraz przez nadtlenoazotyn (stres nitrozacyjny). Skutkuje to indukcją pro-zapalnego i pro-miażdżycowego fenotypu śródbłonka naczyń.

Głównym źródłem i „dyrygentem” produkcji ROS w naczyniach jest enzym oksydaza NADPH (Nox). Jego jedyną znaną funkcją jest produkcja ROS. Ponadto wykazano, że Nox może stymulować produkcję ROS przez inne układy enzymatyczne (mitochondria, oksydaza ksantynowa i inne). W układzie sercowo-naczyniowym człowieka występują cztery izoformy Nox: Nox1, Nox2, Nox4 i Nox5. Nox1/2/5 są enzymami związanymi z błoną komórkową i produkują  $O_2^-$ . Natomiast Nox4 jest związany głównie z błoną jądrową i produkuje  $H_2O_2$ . Różna lokalizacja komórkowa Nox1/2/5 i Nox4 oraz fakt, że enzymy te produkują różne ROS sugeruje, że rola regulacyjna tych enzymów jest różna. W różnych postaciach CVD u ludzi i modelach zwierzęcych stwierdzono wzrost aktywności enzymatycznej Nox oraz wzrost ekspresji Nox1/2. Badania z użyciem zwierząt transgenicznych wykazały udział Nox1/2 w rozwoju pro-miażdżycowego fenotypu naczyń, natomiast nadekspresja genu Nox4 miała protekcyjne działanie naczyniowe. **Udział Nox4 w mechanizmie stresu oksydacyjnego wciąż budzi kontrowersje i dlatego ważne jest poznanie jego fizjologicznej funkcji.**

**Celem ogólnym** mojej pracy jest dokładne wyjaśnienie pewnych nieznanych elementów w mechanizmie stresu oksydacyjnego, a w szczególności funkcji poszczególnych izoform NOX w układzie krążenia. **Celem szczegółowym** jest weryfikacja hipotezy, że na mechanizm przewlekłego naczyniowego stresu oksydacyjnego i dysfunkcji śródbłonkowej składają się dwa procesy:

- (i) Aktywacja pro-miażdżycowych Nox1/Nox2 i NF-κB (czynnika transkrypcyjnego aktywującego geny o działaniu zapalnym) oraz zahamowanie naczynio-protekcijnego systemu Nox4 i Nrf-2 (czynnika transkrypcyjnego aktywującego geny o działaniu anty-oksydacyjnym).
- (ii) Zahamowanie ochronnego systemu Nox4/Nrf-2 jest wtórne do spadku dostępności śródbłonkowego NO, który jest prawdopodobnie naturalnym aktywatorem Nrf-2 i całego systemu Nox4/Nrf-2.

W celu weryfikacji powyższych hipotez zaplanowałam zbadanie:

1. Poziomu aktywacji systemów Nox1/Nox2/Nox5-NF-κB oraz Nox4/Nrf-2 w dwóch modelach przewlekłego stresu oksydacyjnego (przewlekła cukrzyca typu I, stres letni).
2. Wpływu dwóch interwencji, które na drodze różnych mechanizmów zwiększają pulę tlenu azotu (trening fizyczny oraz suplementacja azotynów) na wykładniki: (i) stresu oksydacyjnego (ii) homeostazy NO oraz (iii) pro-zapalnej aktywacji śródbłonka u szczurów z cukrzycą typu I.
3. Wpływu przewlekłego zahamowania endotelialnej syntazy tlenu azotu - eNOS (podawanie inhibitora – L-NAME) na powyższe wykładniki u zdrowych szczurów.

Wyniki mojej pracy wskazują, że naturalnym aktywatorem Nox4/Nrf-2 mogą być interwencje ingerujące pozytywnie w homeostazę śródbłonkowego NO. Wnioski z mojej pracy, mogą stać się impulsem do poszukiwania strategii leczenia stresu oksydacyjnego i CVD polegających na wybiórczym hamowaniu Nox1/Nox2 bądź na aktywacji Nox4.