

## **Ekto-enzymy w interakcjach śródbłonka naczyniowego z komórkami krążącymi we krwi w fizjologii, patologii i terapii; czy komórki mogą wymieniać się ekto-enzymami?**

### **Streszczenie popularnonaukowe projektu**

#### **Tematyka badawcza i cel projektu**

Ekto-enzymy są białkami znajdującymi się w błonie komórkowej, które metabolizują cząsteczki pośredniczące w komunikacji międzykomórkowej w fizjologii i patologii. Występują w znacznej ilości na powierzchni komórek krwi i śródbłonka naczyniowego, będącego pojedynczą warstwą komórek pokrywających wnętrze naczyń krwionośnych. Białka te oprócz aktywności enzymatycznej są zdolne do interakcji z białkami powierzchniowymi innych komórek, co może mieć szczególnie znaczenie w bezpośrednim kontakcie pomiędzy komórkami. Tego typu interakcje między śródbłonkiem a komórkami krwi lub komórkami nowotworowymi mogą prowadzić do rozwoju patologii układu sercowo-naczyniowego oraz rozprzestrzeniania nowotworu. Nasze poprzednie badania znacząco przyczyniły się do zrozumienia roli aktywności ekto-enzymów, degradujących pozakomórkowe cząsteczki sygnałowe, zwłaszcza ekto-deaminazy adenozy (eADA) w patofizjologii chorób sercowo-naczyniowych. Jednak wciąż niewiele wiadomo na temat ich roli w bezpośrednim kontakcie między komórkami. Projekt ten ma na celu zbadanie zmian aktywności ekto-enzymów, w tym eADA, wywołanych poprzez interakcje śródbłonka naczyniowego z komórkami krążącymi we krwi, które mogą stymulować powstawanie niekorzystnego fenotypu komórek śródbłonka. Zbadamy także funkcję ekto-enzymów jako cząsteczek adhezyjnych oraz możliwości terapeutyczne związków modulujących ich właściwości w patologiach naczyniowych i chorobie nowotworowej.

#### **Metodologia projektu badawczego**

Efekt oddziaływań międzykomórkowych na obecność i aktywność ekto-enzymów zostanie zbadany w modelach ko-hodowli komórek śródbłonka z komórkami krążącymi we krwi w warunkach statycznych i przepływowych. Analizy te zostaną przeprowadzone z zastosowaniem technik chromatografii cieczowej (LC), LC w połączeniu ze spektrometrią mas oraz mikroskopii fluorescencyjnej żywych komórek. W celu określenia potencjału międzykomórkowej wymiany ekto-enzymów, wykorzystane zostaną specjalnie opracowane metody ich śledzenia, identyfikujące ekto-enzymy przenoszone z komórek dawców, tzn. komórek krwi i nowotworu na powierzchnię komórek akceptorowych, czyli komórek śródbłonka. Działanie ekto-enzymów jako cząsteczek adhezyjnych oraz mechanizmy ich wiązania pomiędzy komórkami krwi a śródbłonkiem naczyniowym zostaną zbadane w wymienionych powyżej modelach ko-hodowli komórkowych metodą mikroskopii żywych komórek oraz analizy transferu energii rezonansu bioluminescencji. Analizy te przeprowadzone także *in vivo* w mysich modelach zapalenia naczyń i raka piersi poprzez śledzenie wyznakowanych białek enzymatycznych pochodzących ze specyficznego typu komórek krążących. Dodatkowo, przeanalizowany zostanie terapeutyczny potencjał inhibitorów aktywności i wiązania ekto-enzymów w modelach stymulowanego śródbłonka oraz jego interakcji z komórkami krwi. Do tego celu wyselekcjonowane zostaną związki o wysokiej skuteczności w hamowaniu zarówno aktywności eADA, jak i jej właściwości jako molekuly adhezyjnej. Związki, które wykażą najlepsze efekty w badaniach na hodowlach komórkowych, zostaną następnie przebadane pod kątem ich ochronnego wpływu na śródbłonek naczyniowy i stan zapalny ściany naczynia w mysim eksperymentalnym modelu miażdżycy.

#### **Oczekiwany wpływ projektu badawczego na rozwój nauki**

Projekt koncentruje się na lepszym zrozumieniu roli ekto-enzymów w fizjologii i patologii śródbłonka naczyniowego. Obejmuje on istotny aspekt poznawczy dotyczący wyjaśnienia wpływu oddziaływań międzykomórkowych na aktywności śródbłonkowych ekto-enzymów i regulacji zależnych od ich właściwości katalitycznych procesów sygnalizacyjnych. Co więcej, wyniki uzyskane w projekcie wykażą czy białka ekto-enzymów mogą działać jako cząsteczki adhezyjne pośredniczące w procesach adhezji i transmigracji komórek przez monowarstwę śródbłonka. Projekt wskaże również nowe cele terapeutyczne, które będą mogły znaleźć zastosowanie w leczeniu chorób przebiegających z nieprawidłowościami w funkcjonowaniu śródbłonka i jego patologicznych interakcjach z innymi typami komórek. Potencjalny wpływ projektu na rozwój nauki obejmuje przedkliniczną analizę związków działających ochronnie na śródbłonek naczyniowy, które w przyszłości będą mogły zostać wdrożone do badań klinicznych jako terapie izolowane lub zwiększające potencjał już stosowanych leków. Wiedza metodologiczna i technologiczna uzyskana w ramach realizacji projektu będzie miała również zastosowanie w badaniu i leczeniu innych patologii, u których podstaw leżą nieprawidłowości w interakcjach międzykomórkowych.