

Rola karbamyłacji w regulacji układu RAA oraz funkcjonalności endotelium

Szacuje się, że około 850 milionów ludzi na całym świecie cierpi na przewlekłą chorobę nerek (PChN), a codzienna egzystencja około 10 milionów zależy od leczenia nerkozastępczego (dializ) z powodu zaawansowanej niewydolności nerek. Pomimo ciągłych działań mających na celu poprawę wydajności urządzeń do dializy, zastępują one obecnie około 10% fizjologicznej czynności nerek, pozostawiając pacjentów w stanie częściowo wyrównanej mocznicy. Pacjentów z PChN są 10–30 razy bardziej narażeni na wystąpienie chorób sercowo-naczyniowych (CVD) w porównaniu z osobami z prawidłową funkcją nerek.

Upośledzenie funkcji nerek powoduje zatrzymanie w organizmie zbędnych produktów przemiany materii, w tym mocznika. Jego stężenie u osób z schyłkową niewydolnością nerek może być 6-7-krotnie wyższe w porównaniu do osób zdrowych. Duże stężenie mocznika we krwi pacjentów z przewlekłą niewydolnością nerek prowadzi do około 3-krotnego wzrostu stężenia kwasu izocyjanowego który reagując z resztami lizyny i N-końcowymi grupami aminowymi białek i peptydów powoduje powstanie karbamyliny (homocytrulina; HCit). Ta nieodwracalna modyfikacja może wystąpić w wielu miejscach w obrębie jednego białka, zmieniając jego ładunek, strukturę i funkcję. Teoretycznie wszystkie białka mogą ulegać karbamyłacji jednak stopień ich modyfikacji *in vivo* zależy m.in. od dostępności wolnych grup aminowych, od polarności rozpuszczalnika oraz od długości życia danego białka.

Chociaż karbamyłacja białek osocza jest intensywnie badana i poświęcono jej w przeszłości dużo uwagi ze względu na odkrycie jej związku ze śmiertelnością u dializowanych pacjentów (HD), zaskakująco niewiele wiadomo na temat mechanizmu karbamyłacji na rozwój chorób sercowo-naczyniowych. Do tej pory większość badań nad karbamyłacją w tym kontekście koncentrowała się na roli karbamyłowanych lipoprotein, znajdujących się w surowicy pacjentów z PChN, które, jak wykazano, posiadają proaterogenną aktywność biologiczną.

Terapia oparta na blokowaniu układu renina–angiotensyna (RAS), wprowadzona ponad 40 lat temu, okazała się przełomowa w leczeniu CVD. Co ciekawe, inhibitory konwertazy angiotensyny i blokery receptora angiotensyny AT1 działają zarówno na układ RAS, jak i układ kalikreina–kinina (KKS). Oprócz interakcji między RAS i KKS na poziomie enzymu konwertującego angiotensynę katalizującego zarówno produkcję angiotensyny II, jak i degradację bradykininy, RAS i KKS oddziałują również poprzez: kalikreinę oraz angiotensyne-(1-7), która wzmacnia działanie bradykininy.

W poniższym projekcie scharakteryzujemy rolę karbamyłacji w aktywności elementów układu RAS/ KKS, w tym kluczowego regulatora ciśnienia krwi - enzymu konwertującego angiotensynę (ACE) i bradykininy. Zbadamy również wpływ karbamyłacji na zdolność śródbłonka naczyń do pełnienia funkcji fizjologicznych, kluczowych w zapobieganiu tworzeniu blaszki miażdżycowej.

Dlatego ogólne cele projektu są następujące:

1. Charakterystyka efektu karbamyłacji na ACE1 i bradykininę *in vitro* oraz w próbkach klinicznych od pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek, zbadanie wpływu karbamyłacji na ich aktywność fizjologiczną oraz korelacji między karbamyłacją RAS/KKS i CVD w PChN.
2. Charakterystyka efektu karbamyłacji na żywotność śródbłonka, adhezję i migrację monocytów, gojenie ran i ekspresję RAS.
3. Wykorzystując myszy model CDK zbadanie wpływu karbamyłacji na działanie inhibitorów ACE i wapnienie naczyń oraz zbadanie potencjału ochronnego wolnych aminokwasów na wywołane karbamyłacją zaburzenia jako podstawy przyszłej terapii zapobiegawczej.

Nadrzędnym celem proponowanego projektu jest zbadanie roli karbamyłacji elementów układu renina- angiotensyna w przewlekłej chorobie nerek oraz poznanie molekularnych mechanizmów dysfunkcji śródbłonka u dializowanych pacjentów. To z kolei utoruje drogę do opracowania nowych strategii terapii mających na celu eliminację lub zapobieganie karbamyłacji białek w celu zapobiegania i leczenia chorób sercowo-naczyniowych u osób z przewlekłą chorobą nerek lub schyłkową niewydolnością nerek.