



UNIWERSYTET
MEDYCZNY
W ŁODZI

Marcin Talar

**Zmiany ekspresji i aktywności COX-2 w warunkach
hiperglikemii oraz mechanizmy regulacji wazomotoryki naczyń
wieńcowych w zwierzęcych modelach cukrzycy**

Promotor: prof. dr hab. Cezary Watała

Rozprawa doktorska przygotowana
w Zakładzie Zaburzeń Krzepnięcia Krwi
Katedry Nauk Biomedycznych
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Łódź, 2016

STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Cyklooksygenaza 2 (COX-2) jest integralnym białkiem błonowym należącym do rodziny enzymów COX (EC 1.14.99.1) związanych z metabolizmem eikozanoidów. COX-2 katalizuje pierwsze dwa etapy szlaku syntezy prostanoidów, tj. reakcję cyklooksygenacji i peroksydacji. Uważa się, że ekspresja COX-2 ma charakter indukowalny i wzrasta w warunkach stanu zapalnego.

Istnieją doniesienia, że w cukrzycy, gdzie fizjologiczna produkcja tlenku azotu (NO) jest zmniejszona, aktywność COX-2 może przyczyniać się do regulacji napięcia ścian naczyń krwionośnych poprzez produkcję wazoaktywnych prostaglandyn, zwłaszcza prostacykliny (PGI₂) i prostaglandyny E₂ (PGE₂). Koncepcja ta może mieć istotne znaczenie w przypadku zażywania selektywnych inhibitorów COX-2 oraz innych niesteroidowych leków przeciwzapalnych, których zażywanie może przyczyniać się do wzrostu ryzyka występowania incydentów sercowo-naczyniowych. Uważa się, że inhibicja szlaków COX prowadzi do zmniejszenia produkcji wazoaktywnych prostaglandyn produkowanych przez komórki śródbłonna naczyniowego. Takie działanie przesuwają równowagę hemostatyczną między produkcją prostacykliny a tromboksanu A₂ w kierunku syntezy tromboksanu.

Do oceny udziału COX-2 w tym niezwykle intrygującym zjawisku wykorzystano dwa zwierzęce modele cukrzycy. Pierwszy z nich stanowił szczurzy model (szczep Sprague-Dawley) cukrzycy streptozotocynowej odzwierciedlający obraz kliniczny cukrzycy typu 1 u ludzi. Drugim modelem badawczym były myszy db/db, ze spontaniczną mutacją genu receptora leptyny (*Lepr^{db}*) określane skrótem db/db. Otyłe myszy homozygotyczne pod względem tej mutacji reprezentują

model cukrzycy typu 2 u ludzi. W przeprowadzonych z udziałem tych zwierząt doświadczeniach zbadano szybkość przepływu wieńcowego za pomocą techniki Langendorffa oraz syntezę prostaglandyn w perfuzacie pochodzącym z mięśnia sercowego.

Prezentowana praca skupia się również na kompleksowej ocenie poziomu ekspresji i aktywności COX-2 w warunkach hiperglikemicznych. Piersiowy odcinek aorty szczurzej posłużył do wykonania tego etapu pracy doktorskiej. Oprócz wspomnianych dwóch czynników, które mogą przyczyniać się do kompensacji przepływu naczyniowego, w rozprawie doktorskiej podjęto także próbę oceny wpływu nieenzymatycznej N-glikozylacji (glikacji) na aktywność COX-2. Założono, że białka ulegające szybkiemu metabolizmowi, takie jak COX-2, mogą ulegać procesom wczesnej glikacji w cukrzycy. Założono, że obecność tego typu modyfikacji mogłaby prowadzić do wzrostu aktywności COX-2, a tym samym przyczyniać się do kompensacji obserwowanej w cukrzycy zmniejszonej wartości przepływu krwi w naczyniach. Do realizacji tego celu wykorzystano owcze białko COX-2.

Kolejnym problemem podniesionym w poniższej dysertacji jest wątek dotyczący oddziaływania płytek ze zmienionym zapalnie w cukrzycy śródbłonkiem naczyniowym. W badaniach innych autorów zauważa się, że dysfunkcjonalne komórki śródbłonka naczyniowego charakteryzują się zwiększonym powinowactwem względem adherujących do nich płytek krwi. Nie ma jednak w literaturze bezpośredniego dowodu czy hamowanie aktywności COX-2 zmienia to zjawisko. Rozwiązanie tego problemu mogłoby przyczynić się wyjaśnienia obserwowanego wzrostu incydentów sercowo-naczyniowych wśród pacjentów

zażywających selektywne inhibitory COX-2 i inne niesteroidowe leki przeciwzapalne (NSLPZ).

Dlatego zaplanowano badania, które polegały na ocenie wpływu inhibicji COX-2 na adhezję trombocytów do komórek śródbłónka w stanie cukrzycy. Do analizy profilu adhezji płytek krwi wykorzystano łożysko naczyniowe krezki myszy (C57BL/6J) z indukowaną cukrzycą doświadczalną.

Kluczowym rezultatem badań jest potwierdzenie udziału COX-2 w regulacji przepływu naczyniowego w mysim modelu db/db. W toku przeprowadzonych eksperymentów potwierdzono, że hamowanie aktywności COX-2 prowadzi do zmniejszenia podstawowej wartości przepływu wieńcowego u myszy db/db, a efekt ten nie występuje u zwierząt heterozygotycznych. Eksperymenty te dowodzą, że hamowanie aktywności COX-2 w łożysku naczyniowym zmienionym przez chorobę metaboliczną, jaką jest cukrzyca, może mieć niekorzystny wpływ na przepływ krwi w tych naczyniach.

Ponadto, prezentowane wyniki są szczegółową i obszerną analizą wpływu warunków hiperglikemicznych na aktywność i ekspresję COX-2 w aorcie szczurów z indukowaną cukrzycą doświadczalną. Wykazano, że zwiększona produkcja PGI₂ w tym naczyniu nie jest związana ze wzrostem ekspresji lub aktywności COX-2, lecz jest prawdopodobnie zależna od wzrostu ekspresji syntazy PGI₂.

Wyniki zawarte w poniższej pracy doktorskiej mogą stanowić wkład w dyskusję na temat stosowania wybiórczych inhibitorów COX-2 w grupie pacjentów cierpiących na choroby metaboliczne związane z upośledzeniem funkcji naczyń krwionośnych.