

Karolina Siewiera
Zakład Zaburzeń Krzepnięcia Krwi
Katedra Nauk Biomedycznych
Wydział Nauk o Zdrowiu
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
Tel. 604 462 421
ksiewiera@gmail.com

Tytuł: Metabolizm tlenowy jako kluczowy modulator aktywacji płytek krwi – zmiany w metabolizmie energetycznym oraz w aktywności płytkowej cyklooksygenazy 1 w warunkach podwyższonego stężenia glukozy w środowisku - badania *in vitro* oraz *in vivo*

Promotor: Profesor dr hab. n. med. Cezary Watała

Streszczenie

W warunkach hiperglikemii obserwuje się zmiany w funkcjonowaniu płytek krwi prowadzące do powstawania stanu protrombotycznego, w tym nadmierną aktywację płytek krwi. Jednak mechanizmy leżące u podstaw zaburzenia aktywacji płytek i ich nadwrażliwości na działanie czynników stymulujących nadal pozostają niejasne. Dwa mechanizmy związane z metabolizmem tlenowym wydają się mieć w tym istotny udział: metabolizm kwasu arachidonowego z udziałem płytkowej cyklooksygenazy 1 (COX-1) oraz zmiany w funkcjonowaniu komórkowych „elektrowni energetycznych”, czyli mitochondriów. Niniejsza praca ma na celu próbę wyjaśnienia wpływu tych dwóch mechanizmów na funkcjonowanie płytek krwi w cukrzycy.

W przedstawionej pracy doktorskiej podjęto próbę określenia rzeczywistego udziału COX-1 w produkcji silnego czynnika aktywującego płytki krwi - tromboksanu A₂, w warunkach przewlekłej hiperglikemii, oraz oznaczono zmiany w ekspresji i aktywności tego enzymu. Badania przeprowadzono z udziałem dwóch modeli zwierzęcej cukrzycy. Pierwszy model stanowiły myszy posiadające mutację punktową w genie receptora leptyny (myszy db/db), które pod względem patofizjologicznym przypominają obraz kliniczny cukrzycy typu 2 u ludzi. Drugi model stanowiły szczury z cukrzycą zaindukowaną chemicznie przy pomocy streptozotocyny (STZ), które odzwierciedlają obraz kliniczny cukrzycy typu 1 u ludzi. Ponadto, w rozprawie doktorskiej podjęto także próbę oceny wpływu nieenzymatycznej glikacji na aktywność białka COX-1. Założono, że glikacja enzymu COX-1 mogłaby prowadzić do wzrostu jego aktywności, a tym samym przyczynić się do zwiększonej produkcji tromboksanu

A₂ w cukrzycy. W tym celu przeprowadzono badania *in vitro* z wykorzystaniem izolowanego COX-1 oraz różnych czynników glikujących, oceniono możliwość zachodzenia modyfikacji w strukturze białka oraz zbadano wpływ glikacji na aktywność katalityczną badanego enzymu. W pracy doktorskiej podjęto również próbę określenia potencjalnego wpływu zmian w funkcjonowaniu mitochondriów, w tym oddychania mitochondrialnego oraz potencjału mitochondrialnego w płytkach krwi, na ich aktywację w warunkach cukrzycy streptozotocynowej.

Zaprezentowane wyniki są pierwszą tak szczegółową i obszerną analizą wpływu różnych modeli stanów hiperglikemii na ekspresję i aktywność COX-1 w płytkach krwi zwierząt z indukowaną cukrzycą doświadczalną. Podjęte badania są również pierwszą próbą określenia wpływu glikacji białka COX-1 na jego aktywność. Badania te potwierdzają rolę enzymu COX-1 w regulacji aktywacji płytek krwi w różnych typach cukrzycy, zarówno w modelu cukrzycy genetycznej (myszy db/db), jak i w cukrzycy wywołanej chemicznie (STZ). W warunkach przewlekłej hiperglikemii, zwierzęta z cukrzycą wykazują większą ekspresję i aktywność białka COX-1 w stosunku do zwierząt kontrolnych. Zmiany te przekładają się na zwiększoną, zależną od COX-1, produkcję prostaglandyny H₂ i tromboksanu A₂. Badania *in vitro* z wykorzystaniem izolowanego owczego enzymu potwierdzają, iż glikacja białka COX-1 w warunkach hiperglikemii jest możliwa, jednak nie jest ona najprawdopodobniej przyczyną wzrostu aktywności tego enzymu w cukrzycy. Ponadto, badania dotyczące funkcjonowania mitochondriów w płytkach krwi ujawniły, iż w warunkach cukrzycy STZ dochodzi do wzrostu oddychania mitochondrialnego oraz wzrostu potencjału mitochondrialnego w tych komórkach. Dodatkowo zaobserwowano szereg asocjacji pomiędzy tymi parametrami a ekspresją markerów aktywacji płytek krwi. Dane te mogą wskazywać na zależność pomiędzy funkcjonowaniem mitochondriów płytek krwi w cukrzycy a aktywacją tych komórek.