

## VII. Streszczenie

**Tytuł:** Naczyniowy stres oksydacyjny i jego zapobieganie przy pomocy treningu fizycznego i azotynów w modelu cukrzycy typu I u szczura. Nowa koncepcja stresu oksydacyjnego

**Słowa kluczowe:** azotyny, cukrzyca, NF- $\kappa$ B, Nrf2, oksydaza NADPH, stres oksydacyjny, trening fizyczny

Miażdżycowe choroby serca i naczyń, określane terminem „choroba sercowo-naczyniowa” (z ang. *cardiovascular disease*, CVD), są najczęstszą przyczyną zgonów w krajach wysoko rozwiniętych i jednym z najbardziej rozpowszechnionych problemów współczesnej medycyny. Miażdżyca i CVD powstają w wyniku działania takich czynników ryzyka jak hipercholesterolemia, nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, otyłość, palenie papierosów czy starzenie. Wspólnym elementem ich patomechanizmu jest: (i) zwiększona naczyniowa produkcja reaktywnych form tlenu (z ang. *reactive oxygen species*, ROS), takich jak anionorodnik ponadtlenkowy ( $O_2^-$ ) i nadtlenek wodoru ( $H_2O_2$ ); (ii) spowodowana przez ROS inaktywacja śródbłonkowego tlenu azotu (NO) oraz (iii) powstawanie toksycznego nadtlenoazotynu.

Głównym źródłem ROS w naczyniach jest enzym oksydaza NADPH (Nox). W układzie krążenia u ludzi obecne są cztery izoformy enzymu: Nox1, Nox2, Nox4 i Nox5. Różnią się one mechanizmem aktywacji, lokalizacją komórkową i rodzajem produkowanego ROS (Nox1/2/5 produkują  $O_2^-$ , natomiast Nox4 wytwarza  $H_2O_2$ ). Sugeruje to, że rola fizjologiczna poszczególnych izoform może być różna. Panuje obecnie przekonanie, że przyczyną rozwoju promiażdżycowego fenotypu naczyń jest nadmierna naczyniowa aktywacja i/lub ekspresja Nox1/2, natomiast eksperymentalne zwiększenie ekspresji Nox4 ma działanie protekcyjne. Równocześnie, udział Nox4 w mechanizmie stresu oksydacyjnego wciąż budzi kontrowersje i dlatego ważne jest poznanie jego fizjologicznej funkcji.

Celem ogólnym pracy było zbadanie mechanizmu naczyniowego stresu oksydacyjnego, w tym weryfikacja hipotezy, że na poziomie naczyniowym, śródbłonkowy NO jest niezbędny dla utrzymania równowagi między aktywnością prozapalnego i promiażdżycowego systemu Nox2/NF- $\kappa$ B i anty-oksydacyjnego/przeciwwzapalnego systemu Nox4/Nrf2.

W celu weryfikacji powyższej hipotezy, zbadano trzy główne założenia:

1. Poziom aktywacji systemów Nox1/Nox2-NF- $\kappa$ B oraz Nox4/Nrf2 w modelu przewlekłego stresu oksydacyjnego (przewlekła cukrzyca typu I indukowana streptozotocyną).
2. Wpływ dwóch interwencji które zwiększają pulę tlenu azotu, tj. treningu fizycznego oraz suplementacji azotynów na wykładniki: (i) stresu oksydacyjnego, (ii) homeostazy NO oraz (iii) prozapalnej aktywacji śródbłonna u szczurów z cukrzycą typu I.
3. Wpływ przewlekłego, farmakologicznego zahamowania śródbłonkowej syntazy tlenu azotu (eNOS) na powyższe wykładniki u zdrowych szczurów.

Wyniki obecnej pracy wykazały, że interwencje, które zwiększyły ekspresję eNOS i znormalizowały ustrojową homeostazę NO w cukrzycy (tj., trening fizyczny i pokarmowa suplementacja azotynów) zapobiegły cukrzycowej nierównowadze systemów Nox2/NF- $\kappa$ B i Nox4/Nrf2. Dodatkowo, u szczurów u których aktywacja eNOS została zahamowana przy pomocy inhibitora L-NAME, dochodziło do zaburzenia równowagi systemów Nox2/NF- $\kappa$ B i Nox4/Nrf2 podobnego jak u zwierząt z cukrzycą. U zwierząt z farmakologicznie zahamowaną eNOS, pokarmowa suplementacja azotynów pozostawała bez wpływu na ekspresję eNOS i ustrojową homeostazę NO oraz nie przywracała równowagi Nox2/NF- $\kappa$ B i Nox4/Nrf2. Wyniki te sugerują, że NO produkowany przez eNOS jest naturalnym regulatorem równowagi Nox2/NF- $\kappa$ B i Nox4/Nrf2 w naczyniach, co tłumaczy jego anty-miażdżycowe działanie. Dodatkowo, przyczyną promiażdżycowej nierównowagi Nox2/NF- $\kappa$ B i Nox4/Nrf2, przynajmniej w cukrzycy, jest upośledzenie czynności systemu NO/eNOS, prawdopodobnie przez homologi oksydazy NADPH produkujące  $O_2^-$  (głównie Nox2).

Uzyskane wyniki sugerują, że optymalna terapia CVD powinna być nastawiona na: (i) poprawę homeostazy naczyniowej systemu NO/eNOS przez bezpośrednie działanie na ten system i/lub poprzez wybiórcze hamowanie homologów oksydazy NADPH, ale tylko tych produkujących  $O_2^-$  (z zachowaniem czynności Nox4), i/lub (ii) aktywację systemu Nox4/Nrf2.