

## Karbamylacja a zwapnienie tętnic: Nowe spojrzenie na etiologię nadciśnienia

Szacuje się, że na przewlekłą chorobę nerek (PChN) cierpi na całym świecie 850 milionów ludzi. Pomimo ciągłego rozwoju, dializa może zastąpić jedynie około 20% funkcji nerek, pozostawiając pacjentów z chronicznym przeciążeniem toksycznymi metabolitami. Nadciśnienie tętnicze jest czynnikiem ryzyka chorób układu krążenia (CVD), a pacjenci z przewlekłą chorobą nerek są obciążeni wysokim ryzykiem chorób sercowo-naczyniowych, w tym nadciśnienia, niewydolności serca, choroby niedokrwiennej serca, udaru mózgu i nagłej śmierci sercowej. Choroby układu krążenia są główną przyczyną zachorowalności i śmiertelności wśród pacjentów dializowanych.

Karbamylacja jest uznaną cechą starzenia molekularnego i została powiązana z różnymi przewlekłą chorobą nerek i patologiami związanymi z wiekiem, w tym ze zdrowiem naczyń. Wpływa na strukturalną i funkcjonalną integralność białek poprzez nieenzymatyczną reakcję kwasu izocyjanowego z N-końcem białek i peptydów, lub grupami ε-aminowymi reszt lizyny. Ta nieodwracalna modyfikacja może wystąpić w wielu miejscach w obrębie jednego białka, zmieniając jego ładunek, strukturę i funkcję. Istnieją dwa źródła kwasu izocyjanowego *in vivo*: stan zapalny i niewydolność nerek. W pierwszym, jony karbamylujące powstają jako produkt uboczny działania układu mieloperoksydazy (MPO), wykorzystywanego przez neutrofile do obrony bakteryjnej (MPO/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/SCN<sup>-</sup>). Te wysoce reaktywne jony mogą powodować miejscową lub ogólnoustrojową karbamylację, jeśli aktywacja neutrofilów jest powszechna, potencjalnie przyczyniając się do stanu zapalnego, czyli przyspieszonego starzenia się spowodowanego przewlekłym łagodnym stanem zapalnym. Drugim źródłem kwasu izocyjanowego jest naturalny rozkład mocznika, krążącego we krwi metabolitu azotu. Stężenia cyjanianów we krwi, pozostające w równowadze z mocznikiem w proporcji około 1:100, u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek mogą osiągnąć poziom nawet 1 mM, co prowadzi do nadmiernej karbamylacji białek. Nerki, najszybciej starzejące się narządy człowieka, ulegają rocznemu zmniejszeniu współczynnika filtracji kłębuszkowej o około 1%, powodując stałą akumulację karbamylowanych białek, które niekorzystnie wpływają na funkcjonalność białek i przyczyniają się do chorób związanych z wiekiem. Zatem karbamylacja jest kluczowym obszarem badań zarówno nad PChN, jak i starzeniem, obiecującym nowe strategie zarządzania i potencjalnego odwracania wpływu starzenia się na poziomie molekularnym. Chociaż temat karbamylacji białek był popularny w kontekście białek osocza, które powiązano ją ze śmiertelnością u pacjentów poddawanych hemodializie, niewiele wiadomo na temat jej wpływu na ścianę tętnic i rozwój chorób układu krążenia. Większość badań koncentruje się na karbamylowanych lipoproteinach, które wykazują działanie proaterogenne, takie jak indukowanie śmierci komórek, promowanie tworzenia komórek piankowatych makrofagów i proliferacja mięśni gładkich naczyń. Chociaż karbamylacja wpływa na krytyczne białka macierzy zewnątrzkomórkowej, takie jak elastyna i kolagen, i może sprzyjać zwapnieniu, mechanizmy molekularne odpowiedzialne za usztywnienie i zwapnienie tętnic pozostają w dużej mierze niezbadane. Zrozumienie mechanistycznego powiązania między karbamylacją a zmianami patologicznymi w ścianie tętnic ma kluczowe znaczenie dla opracowania nowych metod ochronnych przeciwko starzeniu molekularnemu związanemu z wiekiem i patologiom tętnic w PChN.

Na podstawie wstępnych wyników postawiliśmy hipotezę, że zmiany wywołane karbamylacją są pomijanymi elementami w patogenezie nadciśnienia. W naszym projekcie zbadamy wpływ karbamylacji na nieprawidłowe tworzenie się macierzy pozakomórkowej (ECM), przebudowę ścian tętnic i zwapnienie pozakostne, a wszystkie te czynniki mają kluczowe znaczenie dla rozwoju nadciśnienia i blaszki miażdżycowej. Zbadamy szlaki biochemiczne i molekularne, poprzez które karbamylacja przyczynia się do powstawania blaszek miażdżycowych i nadciśnienia. Biorąc pod uwagę dowody na to, że karbamylacja może służyć jako potencjalny cel zapobiegawczy i terapeutyczny w zmniejszaniu zachorowalności i śmiertelności z powodu chorób metabolicznych układu sercowo-nerkowego, zbadamy również, w jaki sposób spoudoste (rekiny, płaszczyki, rajowate) neutralizują reakcje karbamylacji, co może potencjalnie prowadzić do powstania nowej grupy terapeutyków.

W związku z tym ogólne cele projektu są następujące:

- Ocenić wpływ karbamylacji na aktywność biologiczną inhibitorów aktywnej mineralizacji.
- Scharakteryzować wpływ karbamylacji na formację macierzy pozakomórkowej, zwapnienie śródbłonna *in vitro* i w próbkach klinicznych od pacjentów z PChN.
- Ocenić wpływ karbamylacji na sztywność tętnic różnych przedziałów ściany naczyń *in vitro* i w modelu zwierzęcym przy użyciu mikroskopu sił atomowych (AFM).
- Powiązać karbamylację macierzy pozakomórkowej ścian tętnicy z patologiami związanymi z wiekiem.
- Zbadanie nowych ścieżek neutralizujących reakcje karbamylacji w kontekście fizjologii spoudostych.