

Choroby układu krążenia są jedną z głównych przyczyn zgonów na świecie i odpowiadają za około 18 milionów śmierci rocznie. Szczególnie niebezpieczne są choroby wynikające z zablokowania przepływu krwi w naczyniu krwionośnym, spowodowanej tworzeniem się zatorów na skutek odkładania się lipidów, głównie cholesterolu. Choroby te zwykle wymagają nagłej interwencji kardiologicznej, najczęściej polegającej na wszczepieniu stentu, który rozszerza światło naczynia i przywraca prawidłowy przepływ krwi. Niestety, w wielu przypadkach implantacja stentu wiąże się z licznymi powikłaniami występującymi u pacjenta. Jednym z nich jest mechaniczne uszkodzenie ściany naczynia, które może prowadzić do inicjacji reakcji zapalnej, agregacji płytek krwi i utworzeniem zakrzepu. Taka kaskada zdarzeń może prowadzić do rozwinięcia się u pacjenta restenozy, definiowanej jako ponowne zwężenie średnicy światła naczynia o nawet 50-75%.

Kluczową rolę w prawidłowym funkcjonowaniu naczyń krwionośnych odgrywa sygnalizacja komórkowa, czyli sposób, w jaki komórki komunikują się ze sobą poprzez cząsteczki sygnałowe. Jednym z takich mechanizmów jest sygnalizacja purynergiczna, oparta na wzajemnym oddziaływaniu nukleotydów purynowych (takich jak Ado, AMP, ADP, ATP), ich specyficznych receptorów i enzymów, które hydrolizują nukleotydy lub katalizują reakcję ich przemiany. Mechanizm ten wpływa na takie procesy organizmu jak regulacja średnicy naczyń krwionośnych, procesy zapalne oraz regeneracja tkanek. Zaburzenia w funkcjonowaniu tego systemu mogą prowadzić do rozwoju lub progresji chorób układu krążenia.

Celem niniejszego projektu jest zbadanie właściwości protekcyjnych, regeneracyjnych i remodelujących biokonstrukt AK-GO, w którym kinaza adenylnowa (AK) została zimmobilizowana na powierzchni tlenku grafenu (GO). Enzym ten nie przeprowadza klasycznej reakcji hydrolizy, lecz katalizuje reakcję transferu grupy fosforanowej pomiędzy purynami ($ATP + AMP \rightleftharpoons 2 ADP$), utrzymując balans nukleotydów purynowych w przestrzeni zewnątrzkomórkowej. Tym samym AK przyczynia się do utrzymania homeostazy naczyniowej, przeciwdziałając procesom zapalnym i agregacyjnym.

Badania przeprowadzone w ramach projektu obejmować będą syntezę i oczyszczenie biokonstrukt AK-GO oraz jego zastosowanie w serii eksperymentów w warunkach *in vitro*, przy wykorzystaniu komercyjnych linii komórek śródbłonna (HUVEC) i mięśni gładkich naczyń (HUVSMC). Oba typy komórek w warunkach fizjologicznych tworzą ścianę naczynia krwionośnego i zaangażowane są w procesy chorobowe. Stanowią zatem odpowiedni model do badania rozwoju chorób krążenia. W ramach projektu ocenimy m.in. potencjał proliferacyjny i migracyjny komórek, aktywność enzymów zewnątrzkomórkowych degradujących przekaźniki purynowe, stężenie zewnątrzkomórkowych nukleotydów purynowych. Zbadamy także stężenie cytokin pro- i przeciwzapalnych, określimy przepuszczalność błon komórkowych i przeprowadzimy kokulturę komórek HUVEC i HUVSMC w celu analizy ich wzajemnych interakcji.

Spodziewamy się, że AK-GO będzie wykazywać działanie przeciwzapalne, przeciwapagregacyjne, przeciwestenotyczne, ale również protekcyjne wobec uszkodzonych komórek ściany naczynia. W przyszłości biokonstrukt AK-GO może posłużyć jako nowoczesna powłoka stentu, który udrożni naczynie, jednocześnie znacząco ograniczając ryzyko wystąpienia powikłań i wspomóc procesy regeneracyjne.