

DOROTA FORMANOWICZ¹, MARCIN RADOM², PIOTR FORMANOWICZ^{2,3}

¹*Katedra Chemii i Biochemii Klinicznej
Zakład Biochemii Klinicznej i Medycyny Laboratoryjnej
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
Grunwaldzka 6, 60-780 Poznań,*

²*Instytut Informatyki Politechniki Poznańskiej
Piotrowo 2, 60-965 Poznań*

³*Instytut Chemii Bioorganicznej PAN
Noskowskiego 12/14, 61-704 Poznań
E-mail: doforman@ump.edu.pl*

MODELOWANIE UDZIAŁU ŻELAZA W POWSTAWANIU MIAŻDŻYCY – PODEJŚCIE SYSTEMOWE*

WSTĘP

Chociaż w ostatnich kilkudziesięciu latach dokonał się ogromny postęp w zakresie poznania i zrozumienia przyczyn leżących u podłoża miażdżycy, ciągle jeszcze nasza wiedza jest niewystarczająca, aby umożliwić w pełni skuteczne wyleczenie oraz zapobieganie powstawaniu blaszek miażdżycowych. Problem ten wydaje się być wieloaspektowy. Z jednej strony wynika on ze złożoności miażdżycy, która dziś uważana jest za proces zapalno-fibroproliferacyjny błony wewnętrznej dużych i średnich naczyń tętniczych, nieustannie modyfikowany przez wiele czynników/procesów. Pomimo istnienia rozbieżności na temat znaczenia poszczególnych czynników/procesów, naukowcy są zgodni co do tego, że nie ma miażdżycy bez immunologiczno-zapalnej dysfunkcji śródbłonna naczyniowego, do której dochodzi na tle lokalnego lub ogólnoustrojowego stanu zapalnego (ROSS 1999) oraz towarzyszącego mu stresu oksydacyjnego (STOCKER i KEANEY 2004). Pod pojęciem stresu oksydacyjnego rozumie się wszystkie procesy, w których dochodzi do nasilonego wytwarzania reaktywnych form

tłenu przekraczającego wydolność fizjologicznych układów antyoksydacyjnych.

Kolejną trudność w badaniu złożonych zjawisk biologicznych, których przykładem jest miażdżycy, stanowi napływ bardzo dużej ilości danych pozyskiwanych w następstwie wykorzystywania coraz bardziej nowoczesnych metod badawczych, mających na celu dogłębnierzejsze poznanie badanych zjawisk.

Dodatkowo pojawia się jeszcze jedna kluczowa kwestia, a mianowicie, jakie podejście należy zastosować przy badaniu organizmów żywych. Istnieją dwie możliwości. Jedną z nich jest tzw. podejście „klasyczne” dominujące do niedawna w naukach biologicznych i medycznych, polegające na szczegółowej analizie podstawowych składników danego procesu, czyli np. opierające się na oznaczeniu stężeń związków chemicznych, ocenie grubości blaszki miażdżycowej, itp. Podejście to, choć było i nadal jest źródłem ważnych odkryć, niesie też ze sobą istotne ograniczenia. Najważniejsze z nich wynika z faktu, iż analizowanie wszystkich elementów w sposób oddzielny może okazać się niewystarczająco

*Badania zostały przeprowadzone w ramach realizacji projektu finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2012/07/B/ST6/01537.

jące dla dogłębnego poznania zasad funkcjonowania organizmów żywych i zrozumienia przyczyn powstawania chorób, szczególnie tak złożonych jak miażdżyca. Dziś zaczynamy zdawać sobie sprawę, że procesy biologiczne zachodzące w organizmach żywych są w większości przypadków ściśle ze sobą powiązane i analiza każdego z nich z osobna może prowadzić do formułowania nieprecyzyjnych, a nawet błędnych wniosków.

Alternatywą jest podejście jakie proponują biologia i medycyna systemowa, polegające na traktowaniu organizmów żywych jako złożonych systemów biologicznych, których

budowa i funkcjonowanie w dużym stopniu określone są przez rozbudowaną sieć wzajemnych powiązań pomiędzy ich elementarnymi składnikami. Organizmy żywe są w tej sytuacji postrzegane jako systemy, czyli zbiory elementów niezależnych, ale połączonych i współpracujących ze sobą. Podejście systemowe jest oparte na analizie badanego obiektu jako całości, ze szczególnym zwróceniem uwagi na wszelkie oddziaływania zachodzące w jego wnętrzu i przy jednoczesnym niezaniechaniu szczegółowej analizy podstawowych elementów, z których się on składa.

BADANIE ZŁOŻONYCH SYSTEMÓW BIOLOGICZNYCH – SIECI PETRIEGO

Złożone systemy badane są od kilkadziesiąt lat, przede wszystkim na gruncie nauk technicznych. Do ich analizy niezbędne jest zastosowanie odpowiednich metod matematycznych, gdyż niezależnie od tego, jakiego rodzaju są to systemy: techniczne, ekonomiczne, społeczne czy biologiczne, ich funkcjonowanie określone jest przez pewne, być może nieznanne, ściśle reguły. Poznanie tych reguł umożliwiłoby dokładne zrozumienie natury danego systemu, jednakże wymaga to stworzenia (albo raczej odkrycia) ich precyzyjnego matematycznego opisu. Do tego z kolei konieczne jest stworzenie precyzyjnego modelu danego systemu. Model ten stworzony jest w języku odpowiedniej gałęzi matematyki (często są to równania różniczkowe).

Badanie systemów umożliwiło odkrycie pewnych ich ogólnych własności, w dużym stopniu niezależnych od ich fizycznej natury. Innymi słowy, systemy mogą być traktowane jako obiekty matematyczne i jako takie analizowane, a wyniki takiej analizy mogą być następnie zastosowane (przynajmniej do pewnego stopnia) do badania własności konkretnych systemów istniejących w fizycznym świecie. Badaniem systemów jako obiektów matematycznych zajmują się nauki systemowe, m. in. cybernetyka, ogólna teoria systemów czy teoria sterowania. Przez wiele lat wyniki takich badań nie były w większym stopniu stosowane do analizy zjawisk biologicznych i wykorzystywane były głównie do badania systemów technicznych. Zaczęło się to jednak istotnie zmieniać w ostatnich latach w związku z rosnącym przekonaniem, że układy biologiczne to złożone systemy. Zaczęła się w ten sposób rozwijać nowa gałąź nauki nazywana biologią systemową. Na jej

gruncie procesy biologiczne postrzegane są jako złożone systemy i badane odpowiednimi metodami matematycznymi.

Aby jednak móc analizować złożone systemy, konieczne są do tego odpowiednie narzędzia. Jednym z takich narzędzi są sieci Petriego (PETRI 1962, MURATA 1989). Umożliwiają one tworzenie precyzyjnych matematycznych modeli badanych systemów, przy czym modele te posiadają intuicyjną graficzną reprezentację oraz mogą być poddawane analizie formalnej. Szczegóły dotyczące wykorzystania sieci Petriego do modelowania procesów biologicznych zostały przedstawione m. in. w pracach BŁAŻEWICZA i współaut. (2009a) i FORMANOWICZ i współaut. (2103).

Sieci takie mają strukturę grafów dwudzielnych skierowanych. Podstawową własnością tego typu grafów jest możliwość podzielenia ich zbioru wierzchołków na dwa rozłączne podzbiory w taki sposób, że każdy łuk łączy wierzchołki należące do różnych podzbiorów. W sieci Petriego wierzchołki należące do jednego z tych podzbiorów nazywane są miejscami, natomiast wierzchołki będące elementami drugiego podzbioru to tranzycje. Miejsca odpowiadają pewnym biernym składnikom modelowanego systemu (albo inaczej zasobom, które w nim występują). W przypadku modelowania systemów biologicznych mogą one odpowiadać np. związkom chemicznym. Z kolei tranzycje odpowiadają aktywnym składnikom systemu, czyli pewnym elementarnym procesom, które w nim zachodzą. W kontekście systemów biologicznych mogą to być np. reakcje chemiczne. W graficznej reprezentacji sieci Petriego miejsca zaznaczane są jako okręgi,

natomiast tranzycje jako kwadraty lub prostokąty.

Struktura sieci Petriego opisana przez graf dwudzielny skierowany to jednak nie wszystko. Jej zasadniczą cechą jest dynamika, którą do sieci wnoszą znaczniki. Są one związane z miejscami i mogą pomiędzy nimi przepływać poprzez tranzycje. Przepływ ten odpowiada przepływowi informacji przez modelowany system (nośniki tej informacji mogą być różnego rodzaju, w zależności od charakteru systemu; w systemach biologicznych mogą to być m. in. cząsteczki). Liczba znaczników znajdujących się w danym miejscu odpowiada liczbie jednostek zasobu, który jest modelowany za pomocą tego miejsca. Wektor liczb znaczników znajdujących się we wszystkich miejscach sieci w danym momencie nazywany jest oznakowaniem sieci i odpowiada stanowi systemu modelowanego przez tę sieć (stan ten oczywiście może się zmieniać). Na schemacie sieci Petriego znaczniki zaznaczane są jako kropki lub jako liczby wewnątrz miejsc.

Przepływ znaczników przez sieć Petriego rządzony jest przez regułę aktywacji tranzycji. Każda tranzycja posiada pewną liczbę miejsc wejściowych, tj. takich, z których prowadzi do niej łuk, oraz pewną liczbę miejsc wyjściowych, czyli takich, do których prowadzi łuk z danej tranzycji (w obu przypadkach liczba ta może być równa zero). Ponadto, z łukami są związane liczby dodatnie całkowite nazywane wagami (w przypadku, gdy waga jest równa jeden, nie jest ona odzwierciedlana w graficznej reprezentacji sieci). Jeżeli liczba znaczników znajdujących się w każdym z miejsc wejściowych danej tranzycji jest równa co najmniej wadze łuku łączącego takie miejsce z tą tranzycją, wtedy tranzycja ta staje się aktywna. Aktywna tranzycja może zostać uruchomiona, co oznacza, że przepływają przez nią znaczniki z miejsc wejściowych do miejsc wyjściowych, przy czym liczba znaczników, które przepływają przez dany łuk równa jest jego wadze.

Graficzna reprezentacja sieci Petriego jest bardzo intuicyjna, ale nie może być podstawą formalnej analizy własności sieci. Z tego względu podstawową reprezentacją sieci Petriego jest macierz incydencji $A = (a_{ij})_{n \times m}$. Wiersze tej macierzy odpowiadają miejscom, natomiast kolumny tranzycjom. Liczba a_{ij} jest równa różnicy liczb znaczników znajdujących się w i -tym miejscu (oznaczanym przez p_i) przed i po uruchomieniu j -tej tranzycji (oznaczanej przez t_j).

Sieć Petriego może być analizowana ze względu na wiele własności, jednakże w przypadku, gdy jest ona modelem systemu biologicznego, szczególne znaczenie ma analiza jej niezmienników. Istnieją dwa rodzaje niezmienników sieci Petriego, tj. niezmienniki tranzycji (t-niezmienniki) oraz niezmienniki miejsc (p-niezmienniki). Niezmiennik tranzycji jest wektorem $x \in \mathbb{N}^m$ (gdzie m jest liczbą tranzycji) spełniającym równanie $A \cdot x = 0$. Z kolei niezmiennik miejsc jest wektorem $y \in \mathbb{N}^n$ (gdzie n jest liczbą miejsc) spełniającym równanie $A^T \cdot y = 0$.

Łatwo zauważyć, że każdemu t-niezmiennikowi odpowiada pewien zbiór tranzycji, a każdemu p-niezmiennikowi odpowiada pewien zbiór miejsc. Zbiór taki nazywany jest wsparciem danego niezmiennika. Formalnie, wsparciem $supp(x)$ t-niezmiennika x jest zbiór tranzycji odpowiadających dodatnim liczbom w wektorze x , tj. $supp(x) = \{t_j; x_j > 0, j=1,2,\dots,m\}$. Szczególnie istotne są takie t-niezmienniki, których wsparcia nie są zawarte we wsparciach innych niezmienników, nazywane minimalnymi t-niezmiennikami. Wsparcie p-niezmiennika oraz minimalny p-niezmiennik są zdefiniowane analogicznie.

Wsparcie t-niezmiennika ma tę własność, że uruchomienie każdej tranzycji będącej jego elementem liczbę razy równą liczbie odpowiadającej tej tranzycji w t-niezmienniku (tj. uruchomienie x_j razy tranzycji t_j , dla $j=1,2,\dots,m$) nie zmienia oznakowania sieci.

Sieć powinna być pokryta przez t-niezmienniki, co oznacza, że każda tranzycja powinna należeć do wsparcia jakiegoś t-niezmiennika. Jeżeli tak nie jest, tzn. jeżeli w sieci istnieją tranzycje, które nie są elementami wsparcia żadnego z t-niezmienników, może to oznaczać, iż pewne elementarne procesy odpowiadające takim tranzycjom nie wpływają na działanie sieci. Na ogół oznacza to, że model nie został poprawnie skonstruowany, stąd sprawdzenie pokrycia sieci przez t-niezmienniki jest podstawowym sposobem weryfikacji poprawności modelu.

Analiza t-niezmienników jest szczególnie istotna w przypadku modelowania systemów biologicznych, ponieważ każdy taki niezmiennik odpowiada pewnemu podprocesowi występującemu w badanym systemie. Niektóre z tych podprocesów mogą na siebie wpływać, co powinno znaleźć odzwierciedlenie w zależnościach występujących w zbiorze t-niezmienników. Poszukując zatem takich zależności można odkryć pewne wła-

sności systemu biologicznego, które nie były wcześniej znane.

Analizę zależności między t-niezmiennikami można przeprowadzić opierając się m. in. na dwóch rodzajach struktur. Struktury pierwszego z tych rodzajów to zbiory MCT (ang. maximal common transition sets). Każdy ze zbiorów tego typu zawiera tranzycje należące do dokładnie tych samych t-niezmienników. Zbiory MCT dzielą zbiór tranzycji na rozłączne podzbiory, przy czym każdemu z tych zbiorów powinno być przypisane znaczenie biologiczne. Razem z t-niezmiennikami zbiory MCT stanowią podstawę analizy własności modelowanego systemu biologicznego. Struktury drugiego ze wspomnianych rodzajów to t-klastry. Każdy z t-klastrów zawiera t-niezmienniki, które są do siebie nawzajem podobne. Klastry te powinny odpowiadać pewnym składnikom analizowanego systemu biologicznego pełniącym funkcje wyższego rzędu niż podprocesy odpowiadające t-niezmiennikom. Warto zauważyć, że t-klastry mogą być postrzegane jako zbiory składające się ze zbiorów MCT oraz pojedynczych tranzycji. Podobieństwo między t-niezmiennikami może być obliczane na podstawie różnych miar. Podobnie, klastry mogą być wyznaczone za pomocą różnych algorytmów. Nie jest obojętne jaką miarę

podobieństwa oraz jaki algorytm klastrujący zostanie zastosowany. Również ostateczna liczba klastrów ma istotne znaczenie. Należy więc zarówno miarę podobieństwa, algorytm, jak i liczbę klastrów dobierać ze szczególną uwagą, gdyż mogą one mieć istotny wpływ na otrzymane wyniki. Niestety, trudno byłoby podać ogólną regułę, którą można się posłużyć przy wyborze tych trzech elementów procedury analizy t-niezmienników i w dużej mierze konieczne jest oparcie się na doświadczeniu badacza wspomaganym zastosowaniem pewnych wskaźników wspomagających analizę jakości uzyskanych t-klastrów (por. FORMANOWICZ i współaut. 2013).

W naszych badaniach od kilku lat wykorzystujemy sieci Petriego do modelowania różnych zjawisk biologicznych ze szczególnym naciskiem położonym na procesy, w których bierze udział żelazo (FORMANOWICZ i współaut. 2007, 2009, 2013; SACKMANN i współaut. 2007, 2009; BŁAŻEWICZ i współaut. 2009b). W niniejszej pracy przedstawiony i przeanalizowany zostanie oparty na sieciach Petriego model zjawiska stresu oksydacyjnego (por. FORMANOWICZ i współaut. 2012), leżącego u podłoża procesu powstawania i rozwoju miażdżycy, w którym istotną rolę, poprzez katalizowanie reakcji Fentona, odgrywa żelazo.

UDZIAŁ ŻELAZA W POWSTAWANIU MIAŻDŻYCY – OPIS ZJAWISK PRZEDSTAWIONYCH W MODELU

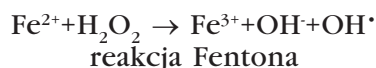
Hipotezę zakładającą, że podwyższone stężenie żelaza może odgrywać istotne znaczenie w rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego zaproponował po raz pierwszy SULLIVAN (1981). Dziś coraz więcej wyników badań wskazuje na ważną rolę żelaza w rozwoju miażdżycy. Szczególne miejsce żelaza w układach biologicznych wynika m. in. z jego właściwości redoks, które zadecydowały o tym, że metal ten jest elementem funkcjonalnym wielu białek i enzymów, ogrywających kluczowe funkcje w licznych ważnych procesach biologicznych organizmów żywych (OLIŃSKI i JURGOVIK 2002). Bardzo dobry przykład stanowią białka oddechowe, czyli białka przenoszące tlen w organizmie, jak np. hemoglobina czy mioglobina, których grupy prostetyczne zawierają hem.

Należy w tym miejscu podkreślić, że te same właściwości, które czynią żelazo składnikiem niezbędnym dla funkcjonowania większości żywych organizmów,

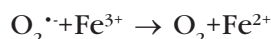
jednocześnie decydują o jego właściwościach toksycznych. W związku z tym, aby nie dochodziło do uszkodzeń wywołanych przez wolne żelazo, wchłanianie oraz magazynowanie żelaza są bardzo precyzyjnie regulowane. Żywe organizmy są chronione przed uszkodzeniami oksydacyjnymi poprzez enzymatyczne systemy antyoksydacyjne, wśród których są dysmutaza nadtlenkowa, katalaza, paraoksonaza, peroksydaza i reduktaza glutationowa oraz nieenzymatyczne systemy antyoksydacyjne, m. in. liczne białka wiążące jony żelaza, takie jak transferryna, ferrytyna, witaminy C i E, flawonoidy oraz karotenoidy.

Żelazo w komórkach występuje przede wszystkim w formie nieaktywnej związanej z ferrytyną. Jednak, aby mogły zajść niektóre reakcje kluczowe dla funkcjonowania organizmu potrzebne jest wolne żelazo, bo tylko takie jest biologicznie aktywne. W komórce występuje nieduża pula wolnego że-

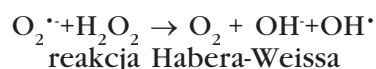
laza (LIP), która może być wykorzystana m. in. do katalizowania cyklu dwóch reakcji bardzo ważnych dla zjawiska stresu oksydacyjnego, leżącego u podłoża miażdżycy. Pierwszą z nich jest reakcja Fentona, w której powstaje jon żelazowy (Fe^{3+}) i silnie toksyczny rodnik hydroksylowy (OH^\bullet):



Drugą natomiast jest reakcja, w której dochodzi do regeneracji jonu żelazowego (Fe^{2+}) na drodze redukcji jonu żelazowego (Fe^{3+}) przez anionorodnik ponadtlenkowy ($\text{O}_2^{\bullet-}$):

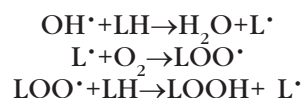


Dodatkowo, anionorodnik ponadtlenkowy zwiększa dostępność wolnego żelaza, ponieważ przyczynia się do jego uwalniania z połączeń z ferrytyną. Po zsumowaniu obu wspomnianych równań powstaje reakcja Habera-Weissa katalizowana przez jony żelaza (FORMANOWICZ 2011, BARTOSZ 2013):

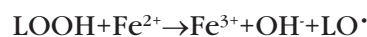


Cykl obu wspomnianych reakcji umożliwia wytwarzanie bardzo dużych ilości jednego z najbardziej reaktywnych utleniaczy, jakim jest rodnik hydroksylowy. Rodnik ten charakteryzuje się wysokim potencjałem redoks, co wskazuje na jego bardzo silne właściwości utleniające i możliwość reakcji ze wszystkimi substancjami występującymi w żywych organizmach. W związku z właściwościami tego rodnika organizmy stosują dwie strategie, aby zapobiec jego powstawaniu. Pierwsza z nich polega na wiązaniu jonów metali przejściowych, żelazo jest jednym z nich, w celu uniemożliwienia katalizowania reakcji Fentona. Druga opiera się na przyspieszeniu reakcji dysmutacji (dysproporcjonowania) prekursorów rodnika hydroksylowego, tj. anionorodnika ponadtlenkowego i nadtlenku wodoru. Organizmy wyposażone są w specjalne enzymy, które katalizują te reakcje. Dysmutaza ponadtlenkowa (SOD) katalizuje reakcję dysmutacji anionorodnika ponadtlenkowego, w następstwie której powstaje cząsteczka tlenu oraz nadtlenek wodoru (H_2O_2). Z kolei katalaza katalizuje reakcję dysmutacji nadtlenku wodoru, a peroksydaza glutationowa reakcję pomiędzy glutationem a nadtlenkiem wodoru, w następstwie której usuwany jest nadtlenek wodoru, lecz powstaje niebezpieczny disulfid glutationu.

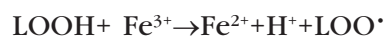
Jednym z najbardziej znanych procesów z udziałem wolnych rodników, w tym m. in. rodnika hydroksylowego i rodnika nadtlenkowego, jest peroksydacja lipidów (BARTOSZ 2013). Z punktu widzenia powstawania i rozwoju miażdżycy bardzo ważne są reakcje peroksydacji, w których rodnik hydroksylowy inicjuje oderwanie atomu wodoru z cząsteczki wielonienasyconego kwasu tłuszczowego (LH) wchodzącego w skład fosfolipidów w aterogennych lipoproteinach (SKOCZYŃSKA 2005) i dochodzi do powstania nadtlenków lipidowych (LOOH):



Wspomniany proces komplikuje się z powodu zjawiska reinicjacji, polegającego na rozpadzie nadtlenków lipidów, co ponownie prowadzi do powstania wolnych rodników. Należy w tym miejscu podkreślić, że rozpad ten jest inicjowany przez jony żelazowe (Fe^{2+}):



oraz jony żelazowe (Fe^{3+}):



Następstwem tych reakcji, które mogą przebiegać w sposób kaskadowy, są wtórne uszkodzenia białek i DNA.

Dla powstawania i rozwoju blaszki miażdżycowej kluczowe są modyfikacje oksydacyjne cząsteczek cholesterolu, głównie cholesterolu LDL, w następstwie których powstają tzw. minimalnie zmodyfikowane cząsteczki LDL (mm-LDL). Oksydowane fosfolipidy w mm-LDL uważa się za główne czynniki prozapalne odpowiedzialne za przewlekły stan zapalny w miażdżycy (LEITINGER 2002). Cząsteczki te z jednej strony nadal uczestniczą w fizjologicznym obiegu cholesterolu, poprzez komórkowy receptor apoB/apoE, z drugiej, stają się rozpoznawalne dla komórek immunokompetentnych, których pojawienie się stymuluje ekspresję receptorów podobnych do białka Toll (TLR) na powierzchni komórek prezentujących antygen. Pod wpływem mm-LDL dochodzi do zahamowania fagocytozy obumarłych komórek piankowatych (tzw. ciał apoptotycznych) przez makrofagi, co sprzyja zapaleniu, niestabilności blaszki miażdżycowej oraz tworzeniu zakrzepu (MILLER i współaut. 2004). Dodatkowo, następuje zwiększenie wychwytu utlenionych

lipoprotein LDL (ox-LDL) przez komórki jednojądrzaste, które napływają do warstwy podśródbłonkowej na skutek miejscowego zapalenia. Kluczowa dla rozpoczęcia reakcji zapalnej niezbędnej dla zainicjowania procesu powstawania blaszki miażdżycowej jest ekspresja naczyniowej cząsteczki przylegania komórkowego (VCAM-1), pod wpływem której do śródbłonka naczyniowego zaczynają przylegać monocyty i limfocyty T. Największy udział w rekrutacji tych komórek ma białko MCP-1 i jego C-C chemokinowy receptor typu 2 (CCR2). Po napływie komórek w okolicę aktywowanego śródbłonka naczyniowego dochodzi do ich transmigracji do warstwy podśródbłonkowej i różnicowania w kierunku makrofagów.

Makrofagi na swojej powierzchni wyposażone są w receptory zmiatające (SR), które pozwalają na nieograniczoną absorpcję ox-LDL. Niestety, modyfikacja ox-LDL jest na tyle znacząca, że zmienione w ten sposób lipoproteiny przestają być dalej rozpoznawane i degradowane poprzez fizjologiczny receptor apoB/apoE. Pozostaje więc jedynie droga usuwania poprzez wiązanie z receptorami SR. Konsekwencją tego zjawiska jest przeładowanie wspomnianych komórek cholesterolem, co wywołuje następową utratę ich mobilności. Stają się one integralną częścią ściany naczynia krwionośnego i ulegają przekształceniu w komórki piankowate. Bardzo ważną rolę w zakresie wiązania ox-LDL przypisuje się TLR. Należy podkreślić, że ox-LDL uszkadzają enzymy w mitochondrialnym łańcuchu oddechowym i zwiększają ilość wolnych rodników tlenowych generowanych przez komórki śródbłonka naczyniowego, komórki mięśni gładkich i makrofagi, co prowadzi w konsekwencji do nasilenia zjawiska stresu oksydacyjnego. Napływające ox-LDL powodują wzrost cAMP w komórkach śródbłonka naczyniowego, co z kolei nasila syntezę białek, takich jak białko chemotaktyczne monocytów 1 (MCP-1), czynnik stymulujący wzrost kolonii makrofagów (M-CSF) oraz wielu komórkowych cząsteczek adhezyjnych, w tym VCAM-1, cząsteczki adhezji międzykomórkowej 1 (ICAM-1) oraz selektyn P i E. Komórki piankowate produkują wolne rodniki tlenowe i metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej, a także inicjującą procesy krzepnięcia i sprzyjają pobudzeniu komórek fagocytujących organizmu, co przyczynia się do aktywacji oksydazy NADPH, dodatkowo nasilając stres

oksydacyjny. Oksydaza NADPH katalizuje bowiem transfer elektronów z NADPH na tlen prowadząc przy tym do powstania dwóch cząsteczek anionorodnika ponadtlenkowego, NADP^+ i jonu wodorowego. Ostatecznie komórki piankowate w obrębie uszkodzenia miażdżycowego obumierają tworząc tzw. ciała apoptotyczne, a znajdujące się w komórce estry cholesterolu i wolnego cholesterolu zostają uwolnione do środowiska. Proces ten uczestniczy w powstawaniu lipidowego lub martwiczego rdzenia zaawansowanej blaszki miażdżycowej (TABAS 2002, FORMANOWICZ 2013).

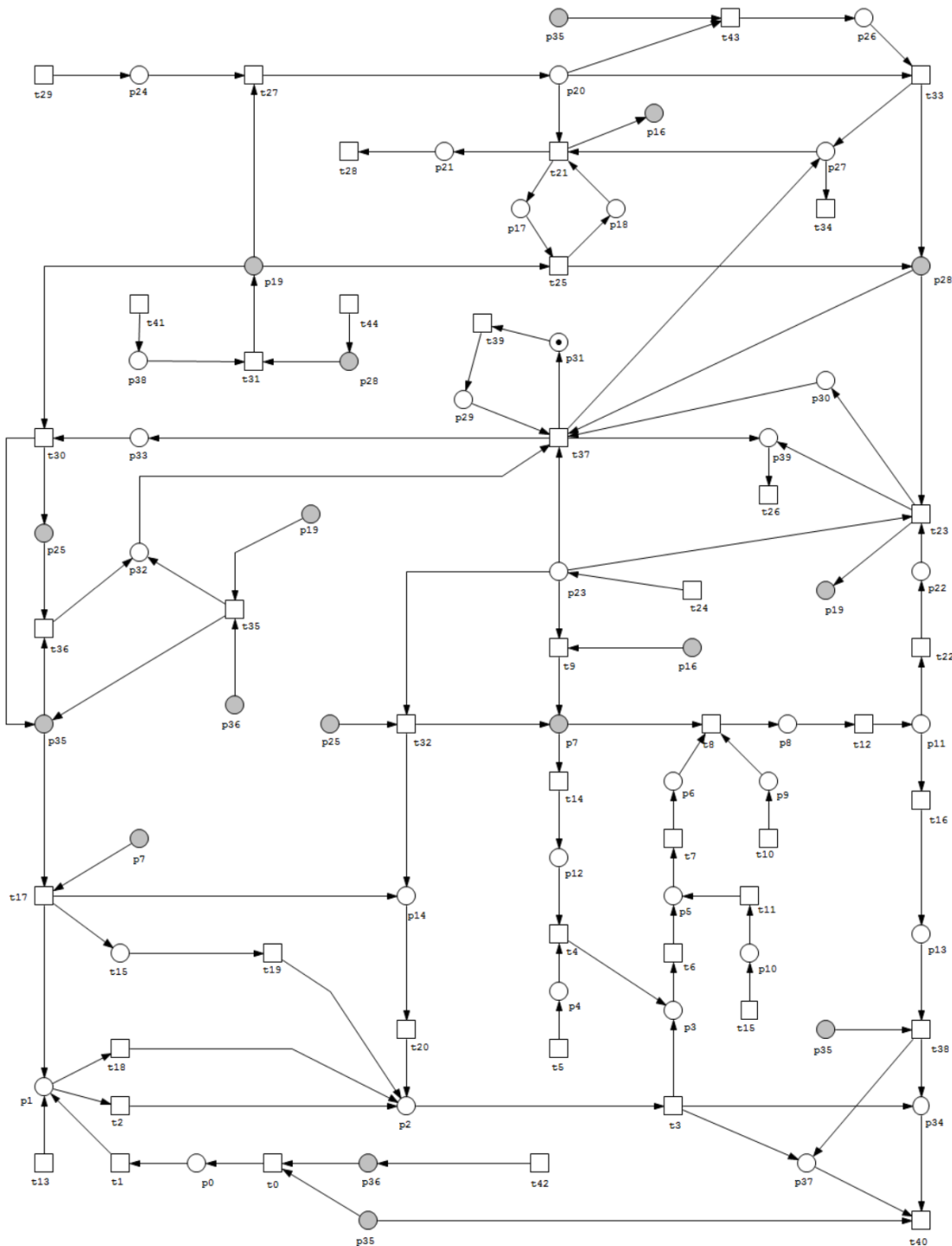
Duża koncentracja komórek zapalnych w okolicy podśródbłonkowej naczynia pogłębia miejscowy stres oksydacyjny. Dodatkowo, ciągłe uwalnianie ROS nasila proliferację makrofagów i przyczynia się do zmniejszonej biodostępności tlenu azotu (NO) stale syntetyzowanego w komórkach śródbłonka naczyniowego przez śródbłonkową syntazę tlenu azotu (eNOS). Jedną z przyczyn zmniejszonej biodostępności jest reakcja anionorodnika ponadtlenkowego z NO, która przebiega trzykrotnie szybciej niż konkurująca z nią reakcja dysmutacji anionorodnika ponadtlenkowego katalizowana przez dysmutazę ponadtlenkową (SKALSKA 2001). W jej następstwie powstaje nadtlenoazotyn (OONO^\cdot), będący głównym mediatorem cytotoksyczności NO. Pod jego wpływem dochodzi m. in. do takich zjawisk jak nitrozylacja oraz nitrowanie białek, co w konsekwencji hamuje aktywność enzymów niezbędnych dla prawidłowego metabolizmu komórkowego.

Należy podkreślić, że niebezpieczeństwo jakie pociąga za sobą reakcja Fentona pozwala zrozumieć dlaczego obieg żelaza jest w organizmie tak precyzyjnie kontrolowany. Obok LIP, potencjalnym źródłem jonów żelaza w osoczu jest hemoglobina. Aby jednak zapobiec jej wykorzystaniu do katalizowania reakcji Fentona, organizmy zostały wyposażone w dwa białka, tj. haptoglobinę wiążącą wolną hemoglobinę i hemopeksynę wiążącą hem. Co ciekawe, ani haptoglobina ani transportująca żelazo transferyna nie mogą zapobiec peroksydacji lipidów katalizowanej przez hem, natomiast związanie hemu z hemopeksyną zapobiega temu procesowi. Podobnie jest w przypadku hemoglobiny i haptoglobiny, tzn. tylko haptoglobina jest w stanie zapobiec peroksydacji lipidów katalizowanej przez hemoglobinę (BARTOSZ 2013).

ANALIZA OPARTEGO NA TEORII SIECI PETRIEGO MODELU UDZIAŁU ŻELAZA W POWSTAWANIU MIAZDŻYCY

W rozdziale tym przedstawiono model udziału żelaza w powstawaniu miazdżycy oparty na sieci Petriego oraz jego analizę. Procesy leżące u podłoża tego zaburzenia zostały opisane w poprzednim rozdziale. Ryc. 1 przedstawia sieć Petriego [wykonaną za po-

moć narzędzia Snoopy (HEINER i współaut. 2012)]. Model zawiera 40 miejsc (p_0, p_1, \dots, p_{39}) i 45 tranzycji (t_0, t_1, \dots, t_{44}). Numery miejsc i tranzycji wraz z przypisanym im nazwami zostały przedstawione odpowiednio w Tabelach 1 i 2.



Ryc. 1. Model udziału żelaza w procesie powstawania miazdżycy.

Tabela 1. Charakterystyka miejsc modelu udziału żelaza w procesie powstawania miażdżycy przedstawionego na Ryc. 1.

Miejsce	Nazwa miejsca
p_0	Komórki śródbłónka naczyniowego będące pod wpływem procesu zapalnego
p_1	VCAM-1
p_2	wcześnie napływające leukocyty
p_3	monocyty w błonie wewnętrznej naczynia
p_4	CCR2
p_5	makrofagi obecne w błonie wewnętrznej naczynia
p_6	makrofagi z receptorami przeciwko SRA lub CD36 na swojej powierzchni
p_7	cząsteczki lipoprotein zmodyfikowane przez utlenianie
p_8	kompleks połączonych receptorów zmiatających i zmodyfikowanych lipoprotein
p_9	cząsteczki lipoprotein zmodyfikowane poprzez glikację
p_{10}	M-CSF
p_{11}	komórki piankowe
p_{12}	MCP-1
p_{13}	ciałka apoptotyczne
p_{14}	ICAM-1
p_{15}	selektyny E
p_{16}	wysoco toksyczny rodnik hydroksylowy (OH^\cdot)
p_{17}	jon żelazowy (Fe^{3+})
p_{18}	jon żelazawy (Fe^{2+})
p_{19}	anionorodnik ponadtlenkowy ($\text{O}_2^{\cdot-}$)
p_{20}	nadtlenek wodoru (H_2O_2)
p_{21}	jon wodorotlenowy (OH^\cdot)
p_{22}	kompleks enzymatyczny NADPH oksydazy
p_{23}	NADPH
p_{24}	dysmutaza ponadtlenkowa (SOD)
p_{25}	nadtlenoazotyn (OONO^\cdot)
p_{26}	katalaza lub peroksydaza glutationowa
p_{27}	cząsteczka wody
p_{28}	cząsteczka tlenu
p_{29}	L-arginina
p_{30}	H^+
p_{31}	cytrulina
p_{32}	iNOS
p_{33}	tlenek azotu (NO)
p_{34}	uszkodzony śródbłonek naczyniowy
p_{35}	cytokiny
p_{36}	zapalenie
p_{37}	powiększona blaszka miażdżycowa
p_{38}	elektrony
p_{39}	NADP^+

Tabela 2. Charakterystyka tranzycji modelu udziału żelaza w procesie powstawania miażdżycy przedstawionego na Ryc. 1.

Tran- zycja	Nazwa tranzycji
t ₀	Aktywacja komórek śródbłonka naczyniowego przez proces zapalny
t ₁	zwiększona ekspresja cząsteczek adhezyjnych leukocytów
t ₂	wczesna rekrutacja leukocytów i ich napływ do tworzących się zmian miażdżycowych, łączenie VACM-1 i VLA-4
t ₃	penetracja monocytów do błony środkowej naczyń krwionośnych
t ₄	łączenie MCP-1 i CCR2
t ₅	synteza CCR2
t ₆	monocyty pozyskują cechy makrofagów
t ₇	ekspresja receptorów zmiatających
t ₈	łączenie zmodyfikowanych lipoprotein z receptorami zmiatającymi komórek jednojądrzastych
t ₉	peroksydacja lipidów przy udziale rodników hydroksylowych
t ₁₀	proces glikacji
t ₁₁	aktywacja makrofagów
t ₁₂	przekształcenie makrofagów w komórki piankowate
t ₁₃	dieta bogatocholesterolowa
t ₁₄	synteza białka MCP-1 przez monocyty/makrofagi, komórki śródbłonka, fibroblasty oraz komórki mięśni gładkich
t ₁₅	synteza M-CSF przez komórki śródbłonka naczyniowego i komórki mięśni gładkich
t ₁₆	przekształcenie komórek piankowatych w ciała apoptotyczne
t ₁₇	pobudzenie komórek śródbłonka naczyniowego do ekspresji komórek adhezyjnych
t ₁₈	przyłączenie monocytów do śródbłonka za pomocą VCAM-1
t ₁₉	przyłączenie monocytów do śródbłonka za pomocą selektyny E
t ₂₀	przyłączenie monocytów do śródbłonka za pomocą ICAM-1
t ₂₁	reakcja Fentona katalizowana przez jony żelaza
t ₂₂	przemieszczenie składników cytoplazmatycznych na błonę komórkową
t ₂₃	proces katalizowany przez oksydazę NADPH
t ₂₄	regenerowanie NADP ⁺ do NADPH głównie w cyklu pentozo-fosforanowym
t ₂₅	reakcja redukcji jonu żelazowego
t ₂₆	wykorzystanie NADP ⁺
t ₂₇	reakcja dysmutacji
t ₂₈	wykorzystanie rodnika hydroksylowego
t ₂₉	pobudzenie mechanizmów obronnych organizmu
t ₃₀	reakcja zachodząca pomiędzy tlenkiem azotu a anionorodnikiem ponadtlenkowym
t ₃₁	synteza anionorodnika ponadtlenkowego
t ₃₂	peroksydacja lipidów poprzez nadltlenoazotyny (OONO [•])
t ₃₃	reakcja dysmutacji katalizowana przez katalazę lub peroksydazę glutationową
t ₃₄	zużycie cząsteczki wody
t ₃₅	degranulacja mastocytów
t ₃₆	aktywacja iNOS przez cytokiny
t ₃₇	reakcja katalizowana przez iNOS
t ₃₈	uszkodzenie śródbłonka naczyniowego
t ₃₉	cykl mocznikowy

t_{40}	progresja miażdżycy
t_{41}	powstawanie elektronów w reakcjach chemicznych
t_{42}	proces zapalny
t_{43}	aktywacja katalazy lub peroksydazy glutationowej pod wpływem obecności nadtlenu wodoru
t_{44}	powstawanie cząsteczki tlenu

Tabela 3. Charakterystyka zbiorów MCT modelu przedstawionego na Ryc. 1.

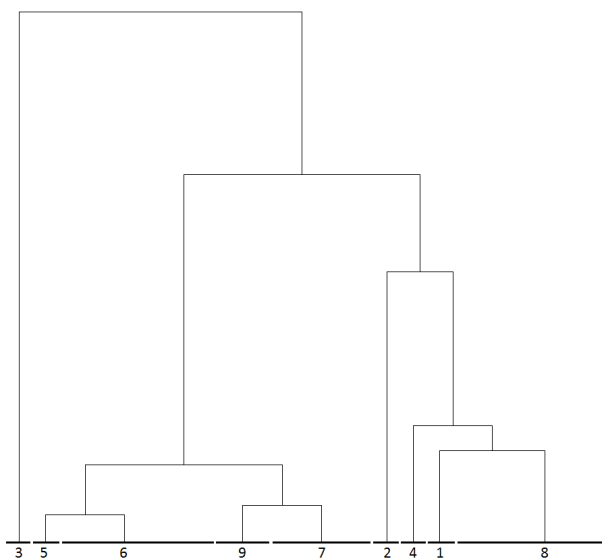
Zbiór MCT	Liczba tranzycji	Znaczenie biologiczne
m_1	16	uruchomienie mechanizmów utrzymujących równowagę oksydacyjno-antyoksydacyjną w organizmie, procesy mające na celu usunięcie substratów reakcji Fentona, reakcje dysmutacji
m_2	7	napływ monocytów w okolice zmienionego zapalnie śródbłonka naczyniowego
m_3	4	peroksydacja lipidów zachodząca pod wpływem reakcji Fentona katalizowanej przez jony żelaza
m_4	3	łączenie MCP-1 z CCR2
m_5	2	aktywacja komórek śródbłonka z następową syntezą na jego powierzchni białek adhezyjnych dla leukocytów
m_6	2	aktywacja makrofagów oraz synteza M-CSF przez komórki śródbłonka naczyniowego i komórki mięśni gładkich
m_7	2	uszkodzenie śródbłonka naczyniowego powiązane z przekształceniem komórek piankowatych w ciała apoptotyczne
m_8	2	pobudzenie zmienionego zapalnie śródbłonka do syntezy białek adhezyjnych powiązane z przyleganiem monocytów do śródbłonka za pomocą selektyny E
m_9	2	wzrost aktywności enzymów katalazy i peroksydazy glutationowej w następstwie wzrostu stężenia nadtlenu wodoru – substratu niezbędnego dla reakcji tworzenia rodnika hydroksylowego

Formalna, matematyczna analiza sieci została rozpoczęta od wygenerowania zbioru niezmienników tranzycji. Sieć okazała się być w całości pokryta przez 23 t-niezmienniki (x_1, x_2, \dots, x_{23}).

Kolejnym krokiem analizy było wygenerowanie zbiorów MCT. Zbiory te obliczane są na bazie zbioru t-niezmienników. Dzielią one strukturę sieci na oddzielne obszary mające pewne określone funkcje biologiczne w ramach modelowanego procesu. Formalnie, zbiór MCT może składać się również tylko z jednej tranzycji, jednakże interesujące są na ogół tzw. nietrywialne zbiory MCT, czyli takie, które zawierają dwie lub więcej tranzycji. W sieci wyróżniono

9 nietrywialnych zbiorów MCT (m_1, m_2, \dots, m_9), których charakterystykę przedstawiono w Tabeli 3.

Kolejnym krokiem była analiza klastrow. Do określenia odległości pomiędzy niezmiennikami użyta została miara korelacyjna Pearsona, natomiast zastosowany algorytm klastrujący, to tak zwana metoda średniego wiązania, czy inaczej UPGMA (ang. unweighted pair group method with arithmetic mean). Przeprowadzono testy porównawcze dla liczby klastrow od 2 do 15. Do oceny jakości podziału na klastry użyta została konturowa miara jakości (ang. mean split silhouette, MSS). Ostatecznie zdecydowano się na wybór 9 klastrow, z których pięć zawiera



Ryc. 2. Dendrogram t-niezmienników (x_1 - x_{23}) modelu przedstawionego na rycinie 1 uszeregowanych w dziewięć klastrow (c_1 - c_9) przy wykorzystaniu algorytmu do grupowania (UPGMA).

tylko jeden element, cztery natomiast od 2 do 6 elementów, przy dość wysokiej ocenie miary MSS dla poszczególnych klastrow jak i całego grupowania. Na Ryc. 2 przedstawiono dendrogram ilustrujący podział t-niezmienników na dziewięć klastrow (c_1 , c_2 , ..., c_9).

Otrzymane klastry szczegółowo opisane zostały w Tabeli 4.

W Tabeli 5 przedstawiono natomiast biologiczną interpretację otrzymanych t-klastrow.

Na podstawie analizy uzyskanych wyników z całą pewnością można stwierdzić, że stres oksydacyjny i uruchomienie mechanizmów antyoksydacyjnych, a także peroksydacja lipidów zachodząca pod wpływem reakcji Fentona katalizowanej przez jony żelaza, są kluczowe dla procesu powstawania i rozwoju miażdżycy. Uruchomienie mechanizmów utrzymujących równowagę oksydacyjno-antyoksydacyjną w organizmie, procesy mające na celu usunięcie substratów reakcji Fentona oraz reakcje dysmutacji znalazły się we wszystkich spośród 23 t-niezmienników. Z kolei peroksydacja lipidów zachodząca pod wpływem reakcji Fentona katalizowanej przez jony żelaza okazała się być elementem składowym 22 t-niezmienników. Tu jedyny wyjątek stanowił niezmiennik x_3 , w którym znalazły się tranzycje związane z lokalnym stresem oksydacyjnym i towarzy-

Tabela 4. Klastry t-niezmienników (przedstawionych jako suma zbiorów MCT i pojedynczych tranzycji).

Kla-ster	t-nie-zmien-nik	MCT	Dodatkowe tranzycje, które nie znalazły się w zbiorach MCT
c_1	x_1	m_1, m_2, m_3, m_4, m_7	
c_2	x_2	m_1, m_3, m_6	t_{36}
c_3	x_3	m_1, m_2, m_9	t_{34}
c_4	x_4	m_1, m_2, m_3, m_4, m_9	t_{36}
c_5	x_5	m_1, m_2, m_3, m_6, m_7	t_{34}
	x_6	m_1, m_2, m_3, m_7	t_2, t_{13}, t_{34}
	x_9	m_1, m_2, m_3, m_7	t_{13}, t_{18}, t_{34}
c_6	x_{12}	m_1, m_2, m_3, m_5, m_7	t_2, t_{34}
	x_{15}	m_1, m_2, m_3, m_5, m_7	t_{18}, t_{34}
	x_{18}	m_1, m_2, m_3, m_7, m_8	t_2, t_{34}
	x_{21}	m_1, m_2, m_3, m_7, m_8	t_{18}, t_{34}
	x_7	m_1, m_2, m_3	$t_2, t_{13}, t_{34}, t_{36}$
c_7	x_{10}	m_1, m_2, m_3	$t_{13}, t_{18}, t_{34}, t_{36}$
	x_{19}	m_1, m_2, m_3, m_8	t_2, t_{34}, t_{36}
	x_{22}	m_1, m_2, m_3, m_8	t_{18}, t_{34}, t_{36}
	x_8	m_1, m_2, m_3, m_4	t_2, t_{13}, t_{36}
	x_{11}	m_1, m_2, m_3, m_4	t_{13}, t_{18}, t_{36}
	x_{13}	m_1, m_2, m_3, m_5	t_2, t_{34}, t_{36}
c_8	x_{14}	m_1, m_2, m_3, m_4, m_5	t_2, t_{36}
	x_{17}	m_1, m_2, m_3, m_4, m_5	t_{18}, t_{36}
	x_{20}	m_1, m_2, m_3, m_4, m_8	t_2, t_{36}
	x_{23}	m_1, m_2, m_3, m_4, m_8	t_{18}, t_{36}
c_9	x_{16}	m_1, m_2, m_3, m_5	t_{18}, t_{34}, t_{36}

szącymi miejscowymi procesami zapalnymi. Niezmiennik ten znajduje się w klastrze c_3 , który na dendrogramie jest najbardziej oddalony od pozostałych klastrow i wyróżnia się spośród nich. Ponadto, klastr ten jako jeden z dwóch, obok c_4 , zawiera zbiór m_9 , tj. wzrost aktywności enzymów katalazy i peroksydazy glutationowej w następstwie wzrostu stężenia nadtlenu wodoru, substratu niezbędnego dla reakcji tworzenia rodnika hydroksylowego. Wspomniane klastry różnią się między innymi wpływem cytokin oraz peroksydacją lipidów. Widać więc, że aktywacja katalazy i peroksydazy glutationowej wcale nie musi zachodzić równoległe do peroksydacji lipidów.

Tabela 5. Biologiczna interpretacja t-klastrów.

Klaster	Charakterystyka
c ₁	uruchomienie mechanizmów utrzymujących równowagę oksydacyjno-antyoksydacyjną w organizmie, procesy mające na celu usunięcie substratów reakcji Fentona, reakcje dysmutacji, napływ monocytów w okolicę zmienionego zapalnie śródbłonka naczyniowego pobudzany wiązaniem MCP-1 z CCR2, powiązane z peroksydacją lipidów zachodzącą pod wpływem reakcji Fentona katalizowanej przez jony żelaza z następowym uszkodzeniem śródbłonka naczyniowego i przekształceniem komórek piankowatych w ciała apoptotyczne
c ₂	uruchomienie mechanizmów utrzymujących równowagę oksydacyjno-antyoksydacyjną w organizmie, procesy mające na celu usunięcie substratów reakcji Fentona, reakcje dysmutacji, powiązane z peroksydacją lipidów zachodzącą pod wpływem reakcji Fentona katalizowanej przez jony żelaza, aktywacja makrofagów oraz synteza M-CSF przez komórki śródbłonka naczyniowego i komórki mięśni gładkich, aktywacja iNOS pod wpływem procesu zapalnego (cytokiny)
c ₃	uruchomienie mechanizmów utrzymujących równowagę oksydacyjno-antyoksydacyjną w organizmie, procesy mające na celu usunięcie substratów reakcji Fentona, reakcje dysmutacji, wraz z napływem monocytów w okolicę zmienionego zapalnie śródbłonka naczyniowego, wzrost aktywności enzymów katalazy i peroksydazy glutationowej w następstwie wzrostu stężenia nadtlenu wodoru – substratu niezbędnego dla reakcji tworzenia rodnika hydroksylowego
c ₄	uruchomienie mechanizmów utrzymujących równowagę oksydacyjno-antyoksydacyjną w organizmie, procesy mające na celu usunięcie substratów reakcji Fentona, reakcje dysmutacji, powiązane z peroksydacją lipidów zachodzącą pod wpływem reakcji Fentona katalizowanej przez jony żelaza, wzrost aktywności enzymów katalazy i peroksydazy glutationowej w następstwie wzrostu stężenia nadtlenu wodoru – substratu niezbędnego dla reakcji tworzenia rodnika hydroksylowego, napływ monocytów w okolicę zmienionego zapalnie śródbłonka naczyniowego pobudzany wiązaniem MCP-1 z CCR2, aktywacja iNOS pod wpływem procesu zapalnego (cytokiny)
c ₅	uruchomienie mechanizmów utrzymujących równowagę oksydacyjno-antyoksydacyjną w organizmie, procesy mające na celu usunięcie substratów reakcji Fentona, reakcje dysmutacji, powiązane z peroksydacją lipidów zachodzącą pod wpływem reakcji Fentona katalizowanej przez jony żelaza, napływ monocytów w okolicę zmienionego zapalnie śródbłonka naczyniowego, aktywacja makrofagów oraz synteza M-CSF przez komórki śródbłonka naczyniowego i komórki mięśni gładkich, uszkodzenie śródbłonka naczyniowego powiązane z przekształceniem komórek piankowatych w ciała apoptotyczne
c ₆	uruchomienie mechanizmów utrzymujących równowagę oksydacyjno-antyoksydacyjną w organizmie, procesy mające na celu usunięcie substratów reakcji Fentona, reakcje dysmutacji, powiązane z peroksydacją lipidów zachodzącą pod wpływem reakcji Fentona katalizowanej przez jony żelaza, napływ monocytów w okolicę zmienionego zapalnie śródbłonka naczyniowego, uszkodzenie śródbłonka naczyniowego powiązane z przekształceniem komórek piankowatych w ciała apoptotyczne
c ₇	uruchomienie mechanizmów utrzymujących równowagę oksydacyjno-antyoksydacyjną w organizmie, procesy mające na celu usunięcie substratów reakcji Fentona, reakcje dysmutacji, powiązane z peroksydacją lipidów zachodzącą pod wpływem reakcji Fentona katalizowanej przez jony żelaza, napływ monocytów w okolicę zmienionego zapalnie śródbłonka naczyniowego, pobudzenie zmienionego zapalnie śródbłonka do syntezy białek adhezyjnych powiązane ze przyleganiem monocytów do śródbłonka za pomocą selektyny E, aktywacja iNOS pod wpływem procesu zapalnego (cytokiny), udział diety bogatocholesterolowej
c ₈	uruchomienie mechanizmów utrzymujących równowagę oksydacyjno-antyoksydacyjną w organizmie, procesy mające na celu usunięcie substratów reakcji Fentona, reakcje dysmutacji, powiązane z peroksydacją lipidów zachodzącą pod wpływem reakcji Fentona katalizowanej przez jony żelaza, napływ monocytów w okolicę zmienionego zapalnie śródbłonka naczyniowego pobudzany wiązaniem MCP-1 z CCR2, aktywacja iNOS pod wpływem procesu zapalnego (cytokiny), udział diety bogatocholesterolowej

c_9 uruchomienie mechanizmów utrzymujących równowagę oksydacyjno-antyoksydacyjną w organizmie, procesy mające na celu usunięcie substratów reakcji Fentona, reakcje dysmutacji, powiązane z peroksydacją lipidów zachodzącą pod wpływem reakcji Fentona katalizowanej przez jony żelaza, napływ monocytów w okolice zmienionego zapalnie śródbłonka naczyniowego, aktywacja komórek śródbłonka z następową syntezą na jego powierzchni białek adhezyjnych dla leukocytów, przyłączenie monocytów do śródbłonka za pomocą VCAM-1 oraz aktywacja iNOS pod wpływem procesu zapalnego (cytokiny)

Zastosowanie podejścia systemowego do analizy procesu powstawania i rozwoju miażdżycy z jednej strony wymusiło konieczność uporządkowania wiedzy na temat badanego

procesu, z drugiej strony pozwoliło stwierdzić, iż bez reakcji Fentona katalizowanej przez jony żelaza praktycznie nie ma miażdżycy.

PODSUMOWANIE

Żelazo ze względu na swoje liczne właściwości jest przedmiotem wielu badań. O tym, że może być ważne dla rozwoju chorób sercowo-naczyniowych leżących u podłoża miażdżycy wspomniał po raz pierwszy ponad trzydzieści lat temu J.L. Sullivan. Dziś skłonni jesteśmy przyznać mu rację. Żelazo niezbędne do katalizowania reakcji Fentona zdaje się być kluczo-

wym pierwiastkiem dla procesów leżących u podłoża miażdżycy. W pracy przedstawiono model udziału żelaza w procesie powstawania miażdżycy stworzony w oparciu o sieci Petriego. Pozwoliło to na uporządkowanie wiedzy na ten temat i jednocześnie wskazało na niewątpliwie znaczenie żelaza dla powstawania blaszki miażdżycowej.

MODELOWANIE UDZIAŁU ŻELAZA W POWSTAWANIU MIAŻDŻYCY – PODEJŚCIE SYSTEMOWE

Streszczenie

Hipotezę zakładającą, że wyższe stężenie żelaza w surowicy odgrywa ważną rolę w rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego zaproponował w 1981 r. J.L. Sullivan. Dziś, wyniki coraz liczniejszych badań potwierdzają istotne znaczenie żelaza w rozwoju miażdżycy. Zasadniczą rolę przypisuje się katalizowanej przez jony tego pierwiastka reakcji Fentona, w następstwie której powstaje silnie toksyczny rodnik hydroksylowy, biorący udział w peroksydacji lipidów. W następstwie wspomnianego procesu powstają zmienione cząsteczki lipidowe, które w spo-

sób nieograniczony wylapywane są przez komórki jednojądrzaste i stają się komórkami piankowatymi, a potem ciałkami apoptotycznymi tworzącymi blaszkę miażdżycową. W pracy tej przedstawiono systemowe podejście do badania prezentowanego zagadnienia. W tym celu został zbudowany model dotyczący udziału żelaza w powstawaniu miażdżycy oparty na sieciach Petriego. Analiza tego modelu pozwoliła na wyciągnięcie wniosków, iż bez reakcji Fentona, którą katalizuje żelazo, blaszka miażdżycowa nie może powstać.

MODELLING OF THE IRON PARTICIPATION IN THE DEVELOPMENT OF ATHEROSCLEROSIS – A SYSTEMIC APPROACH

Summary

The hypothesis that higher serum iron concentration plays an important role in the development of diseases of the cardiovascular system has been proposed in 1981 by J.L. Sullivan. Nowadays, more and more research results confirm importance of iron in the development of atherosclerosis. The essential role plays Fenton reaction catalyzed by ions of this chemical element, which produces highly toxic hydroxyl radical involved in lipids peroxidation. As a result of this process, modified lipid molecules are produced

and phagocytosed in unlimited way by mononuclear cells to become foam cells and then apoptotic bodies that form atherosclerotic plaque. In this paper, a systemic approach to the study of these issues is presented. For this purpose, a model based on Petri nets of the iron participation in the development of atherosclerosis has been built. The analysis of this model allowed us to draw the conclusion that without the Fenton reaction, which is catalyzed by iron, atherosclerotic plaque cannot actually arise.

LITERATURA

- BARTOSZ G., 2013. *Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- BŁĄŻEWICZ J., FORMANOWICZ D., FORMANOWICZ P., 2009a. *Zastosowanie sieci Petriego do modelowania procesów biologicznych*. Kosmos 58, 79–88.
- BŁĄŻEWICZ J., FORMANOWICZ D., FORMANOWICZ P., SACKMANN A., SAJKOWSKI M., 2009b. *Modeling the process of human body iron homeostasis using a variant of timed Petri nets*. Discrete Appl. Math. 157, 2221–2231.
- FORMANOWICZ D., 2011. *Do changes in iron metabolism contribute to the acceleration of the atherosclerosis process?* BioTechnologia 92, 180–192.
- FORMANOWICZ D., 2013. *Studium teoretyczne i kliniczne wybranych aspektów miażdżycy ze szczególnym uwzględnieniem zmian obserwowanych u pacjentów z przewlekłą chorobą zapalną*. Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Poznań.
- FORMANOWICZ D., KOZAK A., FORMANOWICZ P., 2012. *A Petri net based model of oxidative stress in atherosclerosis*. Found. Comput. Dec. Sci, 37, 59–78.
- FORMANOWICZ D., KOZAK A., GŁOWACKI T., RADOM M., FORMANOWICZ P., 2013. *Hemojuvelin-hepcidin axis modeled and analyzed using Petri nets*. J. Biomed. Inform. 46, 1030–1043.
- FORMANOWICZ D., SACKMANN A., KOZAK A., BŁĄŻEWICZ J., FORMANOWICZ P., 2011. *Some aspects of the anemia of chronic disease modeled and analyzed by Petri net based approach*. Bioproc. Biosyst. Eng. 34, 581–595.
- FORMANOWICZ D., SACKMANN A., FORMANOWICZ P., BŁĄŻEWICZ J., 2007. *Petri net based model of the body iron homeostasis*. J. Biomed. Inform. 40, 476–485.
- HEINER M., HERAJY M., LIU F., ROHR C., SCHWARICK M., 2012. *Snoopy – A Unifying Petri Net Tool*. Lect. Notes in Comput. Sci. 7347, 398–407.
- LEITINGER N., 2002. *A role for phospholipid oxidation products as modulators of inflammatory reactions in atherogenesis*. Acta Angiol. 104, 19–202.
- MILLER Y., VIRIAYKOSOL S., BINDER C. J., FERAMISCO J. R., KIRKLAND T. N., WITZTUM J. L., 2003. *Minimally modified LDL binds to CD14, induces macrophage spreading via TL4/MD-2, and inhibits phagocytosis of apoptotic cells*. J. Biol. Chem., 278, 1561–1568.
- MURATA T., 1989. *Petri nets: Properties, analysis and applications*. Proc. IEEE 77, 541–580.
- OLIŃSKI R., JURGOVIĄK M., 2002. *Iron metabolism, oxidative DNA damage, and atherosclerosis*. Acta Angiol. 8, 37–44.
- PETRI C. A., 1962. *Communication mit Automaten*. Rozprawa doktorska, Institut für Instrumentelle Mathematik, Schriften des IIM 3, BONN.
- ROSS R., 1999. *Atherosclerosis-an inflammatory disease*. N. Engl. J. Med. 340, 115–126.
- SACKMANN A., FORMANOWICZ D., FORMANOWICZ P., KOCH I., BŁĄŻEWICZ J., 2007. *An analysis of the Petri net based model of the human body iron homeostasis process*. Computat. Biol. Chem. 31, 1–10.
- SACKMANN A., FORMANOWICZ D., FORMANOWICZ P., BŁĄŻEWICZ J., 2009. *New insights into the human body iron metabolism analysed by a Petri net based approach*. Biosystems 96, 104–113.
- SKALSKA A., 2001. *Wolne rodniki tlenowe a nadciśnienie tętnicze*. Nadciśnienie Tętnicze 5, 147–158.
- SKOCZYŃSKA A., 2005. *Rola lipidów w powstawaniu miażdżycy*. Postepy Hig. Med. Dosw. 59, 346–357.
- STOCKER R., KEANEY J. F. 2004. *Role of oxidative modifications in atherosclerosis*. Physiol. Rev. 84, 1381–1478.
- SULLIVAN J. L., 1981. *Iron and the sex differences in heart disease risk*. Lancet 1, 1293–1294.
- TABAS I., 2002. *Lipids and atherosclerosis*. [W:] *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*. VANCE D. E., VANCE J. E. (red.). Elsevier, Amsterdam, 573–597.