

Śródbłonek odgrywa kluczową rolę w utrzymaniu homeostazy, a zaburzenie jego funkcji są obserwowane w licznych chorobach człowieka. Nie jest jednak wciąż jasne, czy opisywana dysfunkcja śródbłonka jest przyczyną czy też skutkiem toczącego się w obrębie ściany naczynia procesu chorobowego. Badania ostatnich lat wskazują jednak, że deregulacja procesów biologicznych na poziomie epigenetycznym może przyczynić się do tego procesu.

Regulację epigenetyczną definiuje się jako kontrolę aktywności genów, która nie jest powiązana ze zmianami w obrębie sekwencji DNA. MicroRNA jest to grupa krótkołańcuchowych, niekodujących cząsteczek RNA, które odpowiadają głównie za wyciszanie aktywności genów. Mechanizm ich działania zależy głównie od stopnia komplementarności między miRNA a mRNA docelowych genów. Jeżeli istnieje wysoka komplementarność między miRNA a sekwencją w obrębie mRNA, wówczas mRNA ulega degradacji. Natomiast częściowa komplementarność mikroRNA do docelowego regionu powoduje hamowanie translacji, ale bez wcześniejszej degradacji mRNA. W ten sposób mikroRNA wpływają na liczne procesy biologiczne, a ich ekspresja także jest ściśle regulowana. Zarówno zaburzenia w regulacji genów, których ekspresja jest kontrolowana przez mikroRNA jak i same zmiany poziomu ekspresji mikroRNA zostały powiązane z licznymi chorobami, w tym procesami nowotworowymi, chorobami układu sercowo-naczyniowego czy zaburzeniami metabolicznymi. Jednak do tej pory słabo poznane są mechanizmy molekularne wyjaśniające udział konkretnych cząsteczek w patogenezie wymienionych powyżej chorób. Większość przeprowadzonych dotychczas badań w odniesieniu do chorób ludzi miało na celu uzyskanie profilu ekspresji mikroRNA charakterystycznego dla konkretnej jednostki chorobowej. Jedną z takich analiz została przeprowadzona przez nas w odniesieniu do tętniaków aorty. Wykazaliśmy, że 10 cząsteczek mikroRNA wykazuje zmieniony profil ekspresji w tkance tętniaka w odniesieniu do odcinka niezmiennego chorobowo, a 3 z nich wydają się szczególnie interesujące w kontekście dysfunkcji śródbłonka – miR-21-5p, miR-126-3p oraz miR-191-3p. Do tej pory jednak nie zostały przeprowadzone kompleksowe badania, które jednoznacznie wyjaśniłyby mechanizm działania wymienionych powyżej mikroRNA w komórkach śródbłonka.

Jedną z metod funkcjonalnej analizy mikroRNA obejmuje wprowadzenie za pomocą transfekcji do cytoplazmy komórek hodowanych *in vitro* syntetycznych cząsteczek typu *miRNA mimic* lub *miRNA inhibitor*. Różnice w poziomie ekspresji konkretnych genów w wyniku transfekcji dowodzi zaangażowania badanych mikroRNA w ich regulacji. Dotychczas głównie nisko przepustowe metody oceny poziomu ekspresji informacji genetycznej były stosowane. Rozwój metod sekwencjonowania RNA następnej generacji pozwala na ocenę ilościową ekspresji genów na skalę genomową. W związku z tym, w ramach niniejszego projektu planujemy przeprowadzić serię transfekcji *in vitro* ludzkich endotelialnych komórek z wykorzystaniem cząsteczek *miRNA mimic* i *miRNA inhibitor*, a następnie wykonać sekwencjonowanie uzyskanego z tych komórek RNA, co pozwoli na ocenę regulacji epigenetycznej całego transkryptomu. Kolejny krok to analiza bioinformatyczna mająca na celu wskazanie ścieżek sygnałowych, które są regulowane przez miR-21-5p, miR-126-3p or miR-191 i mogą przyczynić się do dysfunkcji śródbłonka.

Wyniki uzyskane w ramach niniejszego projektu pozwolą na skonstruowanie pełnego modelu regulacji epigenetycznej w komórkach śródbłonka mediowanej przez wybrane wcześniej cząsteczki mikroRNA. Ponadto będziemy w stanie wskazać ścieżki, które mogłyby być celem dla nowych terapii nakierowanych na leczenie chorób powiązanych z dysfunkcją śródbłonka. Brak efektywnych metod terapeutycznych dla tych zaburzeń jest dużym problemem ekonomicznym, ponieważ choroby układu sercowo-naczyniowego są wiodącą przyczyną śmierci na świecie. W związku z tym niezwykle ważne jest poszukiwanie nowych metod terapeutycznych, a jedyną drogą do tego jest pełne wyjaśnienie patomechanizmów odpowiedzialnych za dysfunkcję śródbłonka. Ponadto znalezienie nowych biomarkerów, które byłyby pomocne we wczesnej diagnostyce czy monitorowaniu choroby także jest niezwykle istotne. W przyszłości, produkty genów które wykazują zmieniony poziom ekspresji będą mogły być ocenione jako potencjalny biomarker choroby, ale na tym etapie projekt ten ma charakter wyłącznie badań podstawowych.