

Śródbłonek naczyniowy, określany jako największy narząd wewnątrzwydzielniczy człowieka, produkuje i uwalnia liczne substancje wpływające na przeciwstawne procesy, zapewniające utrzymanie homeostazy naczyniowej. W przypadku zaburzenia tej równowagi dochodzi do dysfunkcji, opisywanej jako zaburzony rozkurcz oraz zwiększona przepuszczalność naczyń, czy upośledzenie właściwości naczynioprotekcyjnych śródbłonka. Procesy te są początkowym etapem wielu chorób, między innymi miażdżycy, nadciśnienia, niewydolności serca i innych patologii bezpośrednio niezwiązanych z układem sercowo-naczyniowym, takich jak np. przerzutowość nowotworowa. Z tego względu, nowym podejściem w leczeniu wymienionych schorzeń, staje się ukierunkowanie farmakoterapii na leczenie dysfunkcji śródbłonka. Badania przedkliniczne, badające skuteczność leczenia śródbłonka, wymagają jednak ciągłego rozwoju ze względu na brak rzeczywistych i solidnych metod oceny fenotypu śródbłonka naczyniowego w modelach zwierzęcych. Stosowane w warunkach klinicznych, nieinwazyjne metody oceny czynności śródbłonka nie sprawdzają się w warunkach eksperymentalnych, ze względu na wielkość badanych zwierząt (szczególnie myszy, stanowiących obecnie podstawowy model w badaniach przedklinicznych w biomedycynie) oraz częstotliwość pracy ich serca. Zatem powstaje potrzeba tworzenia nowych metod, które będą w stanie poradzić sobie z wymogiem wysokiej rozdzielczości czasowo-przestrzennej.

W niniejszym projekcie zdecydowano się na użycie nieinwazyjnej metody obrazowej opierającej się na zjawisku magnetycznego rezonansu jądrowego (MRI), charakteryzującą się wysoką czułością i powtarzalnością. Pomimo mniejszej dostępności, MRI stanowi doskonałe narzędzie pozwalające na wgląd w mechanizmy zależne od śródbłonka, zarówno w badaniach klinicznych jak i eksperymentalnych. Jednocześnie, metoda ta dostarcza wielu technik oraz możliwości wykorzystania środków kontrastowych, które pozwalają na badanie śródbłonka nawet u tak małych zwierząt jakimi są myszy.

Celem projektu jest opracowanie i zwalidowanie czulej metodyki obrazowania *in vivo* pozwalającej na skuteczną ocenę zaburzeń śródbłonkowo-zależnej odpowiedzi naczyniorozkurczowej jak i przepuszczalności śródbłonka, które stanowią główne cechy jego dysfunkcji, a po drugie, zastosowanie opracowanej metodyki do oceny śródbłonkowych skutków farmakoterapii śródbłonka w mysim modelu miażdżycy, w którym spontanicznie rozwija się dysfunkcja śródbłonka.

W ramach projektu opracowane i zoptymalizowane zostaną protokoły oceny:

- śródbłonkowo-zależnej odpowiedzi na podanie acetylocholino, powodującej rozkurcz naczyń w warunkach prawidłowych oraz jego paradoksalny skurcz w przypadku dysfunkcji śródbłonka;
- rozkurczu naczyń wywołanym wzrostem przepływu krwi, po chwilowym niedokrwieniu (FMD), co stanowi złoty standard w warunkach klinicznych, a zatem otwiera teren dla badań translacyjnych;
- przepuszczalności śródbłonka z użyciem nowych i standardowych środków kontrastowych akumulujących się w ścianie uszkodzonego naczyń i powodujących skrócenie czasu relaksacji T_1 w tym miejscu, co utożsamiane jest ze zwiększoną przepuszczalnością naczyń.

Protokoły te, zostaną wykorzystane do stworzenia unikatowej metodologii równoczesnej oceny śródbłonkowo-zależnej odpowiedzi naczyniorozkurczającej oraz oceny zmian przepuszczalności śródbłonka *in vivo*. Opracowana metodyka, zostanie wykorzystana do oceny progresji dysfunkcji śródbłonka w mysim modelu miażdżycy, co pozwoli określić wczesny etap zmian w jego fenotypie w toku rozwoju miażdżycy, wskazując tym samym moment, w którym należałoby rozpocząć farmakoterapię śródbłonka. Wykonana zostanie również walidacja metody w kierunku możliwości wykrycia poprawy oraz pogorszenia czynności śródbłonka wywołanej lekami o udokumentowanym pozytywnym (inhibitory konwertazy angiotensyny, perindopril) i negatywnym (inhibitory pompy protonowej, omeprazol) wpływie na czynność śródbłonka. Zmiany czynności śródbłonka będą dodatkowo potwierdzone przy użyciu pomiarów biochemicznych obejmujących ocenę produkcji śródbłonkowego tlenu azotu w izolowanych naczyniach krwionośnych *ex vivo* z użyciem elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR). Ostatecznie, opracowana metodyka zostanie wykorzystana do oceny niezbadanego dotąd wpływu witaminy K_2 na funkcję śródbłonka. Obecne badania pokazują, że witamina K_2 jest niezbędna do prawidłowej proliferacji komórek śródbłonka, więc może mieć również istotne działanie na jego czynność, co z kolei może być głównym mechanizmem odpowiedzialnym za naczynioprotekcyjne działanie witaminy K_2 . W związku z tym badania pozwolą poszerzyć wiedzę w zakresie działania witaminy K_2 na układ naczyniowy.

Podsumowując, efektem proponowanego projektu będzie stworzenie kompleksowej i wieloparametrowej metody oceny fenotypu śródbłonka, co pozwoli na scharakteryzowanie głównych cech dysfunkcji śródbłonka również na jego wczesnych etapach rozwoju. Zatem, wyniki uzyskane w czasie realizacji projektu pozwolą na dokładniejsze zrozumienie śródbłonkowo-zależnych mechanizmów zaangażowanych w procesy chorobowe. Dodatkowo projekt pozwoli określić wpływ działania witaminy K_2 na stan śródbłonka naczyniowego, co do tej pory nie zostało jeszcze zbadane i scharakteryzowane. Badania te mogą otworzyć nowe perspektywy dla badań z zakresu farmakoterapii śródbłonka *in vivo* i profilowania śródbłonkowego działania leków w modelach mysich *in vivo*.