

Niniejszy projekt ma na celu uzupełnić wiedzę na temat roli ROS generowanych podczas jednorazowego maksymalnego wysiłku przez śródłonkowe enzymy NOX2 i NOX4 (z ang. *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate (NADPH) Oxidase (NOX)*) w powysiłkowym stresie oksydacyjnym i adaptacji/maladaptacji śródłonka, a także w regulacji wydolności wysiłkowej oraz powysiłkowych parametrów hemostatycznych/zakrzepowych przy użyciu unikatowych modeli zwierzęcych (myszy genetycznie zmodyfikowane typu knock-out (KO) enzymów NOX selektywnie w śródłonku).

Reaktywne formy tlenu (z ang. *Reactive Oxygen Species*, ROS) jako produkty uboczne metabolizmu powstające w wyniku redukcji tlenu stanowią szeroką grupę cząsteczek o różnej reaktywności, np.: anionorodnik ponadtlenkowy ($\cdot\text{O}_2^-$), nadtlenoazotyn ($\text{HONO}\cdot$) oraz nadtlenek wodoru (H_2O_2). Ich nadmierna produkcja w ilościach znacznie przekraczających zdolności eliminacji przez naturalne endogenne mechanizmy antyoksydacyjne lub powstawanie w nietypowych fizjologicznie miejscach określane są mianem stresu oksydacyjnego. Stres oksydacyjny może być przyczyną uszkodzenia struktur komórkowych, białek, lipidów oraz DNA i towarzyszy wielu jednostkom chorobowym. Z drugiej strony, ROS są również ważnymi cząsteczkami w regulacji procesów fizjologicznych. Wśród źródeł powstawania ROS możemy wyróżnić: NADPH oksydazy (NOX), oksydazę ksantynową (z ang. *xanthine oxidase*, XO), syntazę tlenu azotu (NOS) oraz mitochondrialny łańcuch oddechowy.

Wykonywanie wysiłku fizycznego wiąże się ze zwiększoną produkcją ROS. Jak wskazują dane literaturowe powstające w wysiłku ROS pośredniczą w prozdrowotnych efektach regularnego wysiłku poprzez uruchomienie wielu mechanizmów adaptacyjnych. Jednak powstające w nadmiernej ilości ROS podczas wysiłku mogą prowadzić do upośledzenia kurczliwości mięśni szkieletowych i wywołać ich zmęczenie. Ponadto, powstający w wysiłku $\cdot\text{O}_2^-$ w bezpośredniej reakcji może inaktywować tlenek azotu (NO) produkowany przez śródłonkę. Znacznie obniżona biodostępność NO z powodu zwiększonej produkcji $\cdot\text{O}_2^-$ w wysiłku może prowadzić do przejściowej dysfunkcji śródłonka. W związku z tym można przypuszczać, iż nadprodukcja ROS podczas zbyt intensywnego wysiłku zmniejszają wydolność wysiłkową. Jednakże badania z udziałem ludzi i zwierząt nie potwierdzają tego, ponieważ suplementacja antyoksydantami nie poprawia zdolności wykonania jednorazowego intensywnego wysiłku. Obecnie wiadomo, iż korzystne lub szkodliwe efekty biologiczne ROS nie są wynikiem jedynie ilości w jakiej powstają, ale również mogą być uzależnione od źródła ich produkcji w komórkach i tkankach, jak również rodzaju generowanej cząsteczki. Wydaje się, że jednym z głównych źródeł ROS i stresu oksydacyjnego w wysiłku jest zwiększona aktywność NADPH oksydaz (NOX) w śródłonku, w którym aktywne są NOX1, NOX2, NOX4 i NOX5. Enzymy NOX obecne w śródłonku głównie generują $\cdot\text{O}_2^-$. Wyjątkiem jest NOX4, który w przeciwieństwie do innych generuje H_2O_2 . O_2^- produkowany przez NOX1, NOX2 i NOX5 inaktywuje bezpośrednio NO produkowany przez syntezę NO w śródłonku (eNOS), co przyczynia się do dysfunkcji śródłonka. Natomiast NOX4 przez produkcję H_2O_2 nie inaktywuje NO i jak wskazują dane literaturowe wydaje się pełnić rolę protekcyjną w układzie sercowo-naczyniowym.

Dla osiągnięcia celu proponowanego projektu myszy kontrolne oraz myszy NOX2-KO i NOX4-KO selektywnie w komórkach śródłonka zostaną poddane jednorazowemu maksymalnemu wysiłkowi na bieżni. Jako materiał badawczy do oceny powysiłkowego stresu oksydacyjnego i funkcji śródłonka oraz powysiłkowych parametrów hemostatycznych/zakrzepowych posłużą: krew, osocze oraz izolowana aorta. Ocena wydolności wysiłkowej u myszy opierać się będzie na porównaniu dystansu, czasu biegu, osiągniętej prędkości maksymalnej oraz maksymalnej konsumpcji tlenu ($\text{VO}_{2\text{max}}$).

Wskazanie korzystnej lub negatywnej roli ROS powstających w wysiłku w zależności od źródła ich enzymatycznego pochodzenia w śródłonku może przyczynić się do opracowania nowej strategii farmakologicznej w celu poprawy tolerancji wysiłku oraz ograniczenia niebezpiecznych skutków ostrego intensywnego wysiłku u pacjentów z dysfunkcją śródłonka.