

Hiponatremia definiowana jest jako obniżenie stężenia jonów Na^+ w osoczu poniżej 135 mM, (norma: 136 - 145 mM). Jest to najczęstsza nieprawidłowość gospodarki elektrolitowej u pacjentów hospitalizowanych. Przyczyną hiponatremii jest zazwyczaj zatrzymanie wody w organizmie z powodu wzrostu poziomu hormonu antydiuretycznego we krwi, znanego również jako wazopresyna (AVP). Hiponatremia wiąże się z deficytami neurologicznymi, zwiększonym ryzykiem powikłań i zgonu. Nasilenie objawów neurologicznych w hiponatremii zależy od tempa spadku stężenia Na^+ . Jeżeli spadek natremii nastąpi w czasie krótszym niż 48 godzin, mamy do czynienia z ostrą hiponatremią i wachlarzem objawów od łagodnych do ciężkich. Jeśli spadek ten wystąpi w ciągu 48 godzin, hiponatremia nazywana jest przewlekłą, a objawy są łagodne lub nie występują. Przyczyna niepożądanych skutków hiponatremii u pacjentów pozostaje niejasna. Ostatnie badania wykazały, że pacjenci z przewlekłą hiponatremią cierpią na deficyty uwagi, mają także zaburzone funkcje poznawcze i motoryczne. Najbardziej prawdopodobną przyczyną takich nieprawidłowości w hiponatremii jest zaburzenie metabolicznej regulacji krążenia mózgowego. Wstępne badania do tego projektu wykazały, że podwyższone stężenie AVP w obecności obniżonego stężenia Na^+ (model *in vitro* hiponatremii skojarzonej z AVP) prowadzi do skurczu i upośledzenia regulacji napięcia małych śródmózgowych naczyń krwionośnych zwanych także tętniczkami parenchymalnymi (PA). Takie nieprawidłowości wskazują na dysfunkcję śródbłonna. W warunkach fizjologicznych komórki śródbłonna naczyniowego izolują mózg od krwi tworząc barierę krew-mózg (BBB) i uczestniczą w przekrwieniu czynnościowym (wzrost dopływu krwi do aktywowanej części mózgu) poprzez uwalnianie rozszerzającego naczynia tlenku azotu (NO). Dysfunkcyjny śródbłonek uwalnia związki zwięzające naczynia krwionośne, upośledza czynnościowe przekrwienie i prowadzi do zwiększonej przepuszczalności BBB. Jedną z przyczyn dysfunkcji śródbłonna w hiponatremii skojarzonej z AVP może być stres oksydacyjny i wytwarzanie reaktywnych form tlenu (ROS). Celem tego projektu jest wyjaśnienie mechanizmów zaburzeń naczyniowych w hiponatremii w obecności AVP z uwzględnieniem znanych konsekwencji stresu oksydacyjnego. W tym projekcie zostanie prześledzone, jak zmiany na poziomie komórkowym przekładają się na dysfunkcję mózgu w ostrej i przewlekłej hiponatremii skojarzonej z AVP. Szczegółowymi celami tego badania jest ustalenie, czy hiponatremia związana z AVP prowadzi do: 1) skurczu PA poprzez receptor wazopresyny V_{1a} ; 2) zaburzonej śródbłonko-zależnej regulacji i skurczu PA, które mogą być odwrócona przez zmiatacze ROS i prekursor NO, czyli L-argininę; 3) stanu zapalnego naczyń; 4) rozszczelnienia BBB; 5) zaburzenia czynnościowego przekrwienia i reaktywności mikronaczyniowej na produkty metabolizmu komórkowego; 6) deficytów neurologicznych. Wszystkie eksperymenty zaplanowane w tym projekcie zostaną przeprowadzone *in vivo* na szczurach lub *in vitro* na pobranych od nich tkankach, takich jak PA, mózg i krew. Eksperymenty *in vitro* na izolowanych PA zostaną przeprowadzone w komorze naczyniowej, w której naczynia zostaną umieszczone w specjalnym buforze, poddane działaniu ciśnienia i perfuzji. Hiponatremia będzie indukowana przez obniżenie stężenia Na^+ w buforze ze 144 do 121 mM w obecności 15 pg/ml AVP. Za pomocą tego modelu zostanie ocenione, czy uszkodzenie naczyń w ostrej hiponatremii w obecności AVP jest związane z aktywacją receptora wazopresyny V_{1a} , z zaburzonym uwalnianiem NO przez śródbłonek i wytwarzaniem ROS. W badaniach *in vivo* zostaną wykorzystane dwa modele hiponatremii, a mianowicie ostra i przewlekła. Ostra hiponatremia związana z AVP będzie indukowana przez podskórne wstrzyknięcie AVP w połączeniu z dootrzewnowym podaniem wody do iniekcji w dawce 9-12% masy ciała. Wytwarzanie ROS w PA zostanie wykryte za pomocą specjalnego barwienia fluorescencyjnego. Stężenie azotynu w plazmie, będącego markerem produkcji NO, będzie mierzone za pomocą analizatora tlenku azotu. Ekspresja genów i poziomu białek mediatorów zapalnych, a także białek połączeń ścisłych BBB będą analizowane przy użyciu metod PCR w czasie rzeczywistym i Western blot. Przepuszczalność BBB zostanie oceniona za pomocą fluoresceiny-dekstranu (FITC-dekstran) i spektrofotometrii fluorescencyjnej. Aby dowiedzieć się, czy hiponatremia związana z AVP zaburza czynnościowe przekrwienie, zbadane zostaną zmiany w mikroprzepływie w korze somatosensorycznej w odpowiedzi na stymulację przedniej łapy. W warunkach fizjologicznych obserwuje się wzrost mikroprzepływu podczas takiej stymulacji. Upośledzenie tej odpowiedzi może skutkować deficytami neurologicznymi. Trzecia część badań zostanie przeprowadzona w modelu *in vivo* przewlekłej hiponatremii skojarzonej z AVP. W tym modelu hiponatremia będzie indukowana za pomocą minipompy osmotycznej ALZET wypełnionej AVP i diety płynnej dla gryzoni. W tym modelu hiponatremii zostaną przeprowadzone takie same eksperymenty, jak w modelu *in vivo* ostrej hiponatremii skojarzonej z AVP. Ponadto ocena funkcji poznawczych i motorycznych zostanie przeprowadzona za pomocą testów behawioralnych. Problemy poruszane w projekcie są ważne z medycznego punktu widzenia, ponieważ są często poruszane w literaturze medycznej, ale nigdy wcześniej nie były badane. Badania zaplanowane w ramach tego projektu przyczynią się do lepszego zrozumienia niekorzystnych skutków hiponatremii u pacjentów, u których zaburzenie to jest związane z wysokim stężeniem AVP w osoczu i ujawnią różnice między ostrym i przewlekłym wpływem hiponatremii na układ naczyniowy mózgu i na funkcję mózgu. Wiedza ta jest ważna nie tylko z czysto naukowego punktu widzenia, ale także perspektywicznie dla właściwego leczenia ostrej i przewlekłej hiponatremii.