

Imię i nazwisko autora pracy	Joanna Suraj
Imię i nazwisko promotora pracy	Maria Walczak (promotor pracy), Anna Kurpińska (promotor pomocniczy)
Wydział	Farmaceutyczny UJ CM
Instytut/Katedra	Katedra i Zakład Toksykologii
Dziedzina wg klasyfikacji KBN	04 nauki farmaceutyczne
Nadawany tytuł	doktor n. farmaceutycznych
Tytuł pracy w jęz. polskim	„Opracowanie panelu biomarkerów białkowych oraz ich zastosowanie do wieloparametrowej oceny czynności śródbłonka naczyniowego”

STRESZCZENIE

Śródbłonek naczyniowy to wyspecjalizowana warstwa komórek pochodzenia mezenchymalnego wyściełająca naczynia krwionośne i limfatyczne organizmu. Zdrowy śródbłonek jest niezbędny do prawidłowego funkcjonowania układu sercowo-naczyniowego, a jego dysfunkcja jest przyczyną lub następstwem wielu chorób. Jako złożony i niejednorodny narząd wydziela liczne substancje działające auto-, para- i endokrynnie, dzięki czemu odgrywa istotną rolę w utrzymywaniu prawidłowej homeostazy organizmu, wpływając na procesy krzepnięcia i fibrynolizy, regulację procesów zapalnych oraz przepuszczalność ścian naczyń krwionośnych.

Celem pracy było opracowanie i walidacja metody jednoczesnego oznaczania wybranych białek, jako specyficznych biomarkerów dysfunkcji śródbłonka naczyniowego, z zastosowaniem metod analitycznych używanych w obszarze proteomiki celowanej oraz wykorzystanie tej metody do wieloparametrowej oceny czynności śródbłonka naczyniowego w toku chorób przebiegających z dysfunkcją tego narządu. Wyselekcjonowane mediatory uwalniane przez śródbłonek naczyniowy oznaczano w mysich modelach schorzeń, takich jak stłuszczenie wątroby wywołane dietą wysokotłuszczową (HFD), endotoksemia

indukowana dootrzewnowym podaniem lipopolisacharydu (LPS) oraz przerzutujący rak sutka wywołany ortotopową inokulacją komórek linii 4T1 do gruczołu sutkowego myszy.

W opracowanym panelu znalazły się białka będące markerami **uszkodzenia glikokaliksu**: syndekan-1 (**SDC-1**) i endokan (**ESM-1**); **stanu zapalnego**: rozpuszczalna postać cząsteczki adhezji komórkowej naczyń 1 (**sVCAM-1**), rozpuszczalna postać cząsteczki adhezji międzykomórkowej 1 (**sICAM-1**) i rozpuszczalna forma E-selektyny (**sE-sel**); **zwiększonej przepuszczalności naczyń**: rozpuszczalna forma fms-podobnej kinazy tyrozynowej 1 (**sFLT-1**) i angiopoetyna 2 (**Angpt-2**); **hemostazy**: czynnik von Willebranda (**vWF**), inhibitor aktywatora plazminogenu 1 (**PAI-1**) i tkankowy aktywator plazminogenu (**t-PA**) oraz **innych procesów związanych z dysfunkcją śródbłónka naczyniowego**: adrenomedulina (**ADM**) i adiponektyna (**ADN**).

W modelu HFD zaobserwowano zaburzenia w metabolizmie adipocytokin (zmniejszone wydzielanie ADN) oraz aktywację procesów prozakrzepowych (nasiloną biosynteza vWF).

W modelu LPS stwierdzono uszkodzenie glikokaliksu (zwiększone wydzielanie SDC-1), które prawdopodobnie skutkowało zwiększoną przepuszczalnością śródbłónka (zwiększone wydzielanie Angpt-2 i sFLT-1) oraz nasileniem procesów prozakrzepowych i antyfibrynolitycznych (zwiększone wydzielanie PAI-1).

W modelu 4T1 zidentyfikowano biomarkery wczesnej i późnej przerzutowości nowotworowej. We wczesnej fazie rozwoju choroby zaobserwowano uszkodzenie glikokaliksu (zwiększone wydzielanie SDC-1 i ESM-1), zwiększoną przepuszczalność śródbłónka (zwiększone wydzielanie Angpt-2) oraz rozwój stanu zapalnego (nasilenie uwalniania sVCAM-1). W późnej fazie choroby poza procesami charakterystycznymi dla wczesnej metastazy zaobserwowano również zwiększenie aktywności prozakrzepowej i antyfibrynolitycznej (nasilenie syntezy PAI-1 i vWF), zaburzenia w metabolizmie

adipocytów białej tkanki tłuszczowej (zmniejszenie syntezy ADN) oraz nasilenie wydzielania ADM.

W badaniach wstępnych opracowaną metodę zastosowano do oznaczenia stężenia biomarkerów w osoczu zdrowych ochotników, chorych z przewlekłą białaczką szpikową (CML) leczonych imatynibem oraz chorych z obturacyjnym bezdechem sennym (OSA). U chorych z CML stężenie t-PA, sFLT-1 i ADM było niższe niż u zdrowych ochotników, natomiast u chorych z OSA zaobserwowano zwiększenie stężenia Angpt-2 oraz zmniejszenie stężenia ADM. Badania wykonane w tych dwóch grupach chorych potwierdziły odmienny fenotyp dysfunkcji śródbłonna naczyniowego.

Opracowana metoda jednoczesnego oznaczania wybranych mediatorów uwalnianych przez śródbłonek naczyniowy posiada potencjał do zastosowania u ludzi, jako nowe narzędzie we wczesnej diagnostyce chorób z potwierdzoną dysfunkcją śródbłonna naczyniowego oraz do monitorowania skuteczności farmakoterapii.