

Popularnonaukowe streszczenie projektu

Skomplikowane układy, jakimi są żywe organizmy, wymagają do prawidłowego funkcjonowania skoordynowanego działania wszystkich jego elementów. Nie jest możliwe panowanie nad homeostazą organizmu bez przekazywania informacji przez komórki na dalekie odległości, do innych tkanek, narządów, czy organów. Za tę komunikację opowiadają mikropęcherzyki.

Mikropęcherzyki są różnorodną grupą kulistych cząsteczek utworzonych z dwuwarstw lipidowych. Różnią się one składem, sposobem powstawania oraz wielkością. Średnica najmniejszych z nich – egzosomów – mieści się w przedziale 30 -100 nm. Powstają one we wnętrzu komórki w ciałkach wielopęcherzykowych i z nich uwalniane są do przestrzeni zewnątrzkomórkowej. Niosą w sobie informacje zakodowane w postaci różnego składu lipidowego, białkowego oraz za pomocą kwasów nukleinowych. Jednym z najważniejszych z nich są cząsteczki miRNA. Są to krótkie (17-20 nukleotydów) fragmenty RNA, które posiadają zdolność regulacji ekspresji genów. W ramach projektu planowana jest synteza i charakterystyka sztucznych egzosomów do celowanego dostarczania miRNA na komórkowym modelu cukrzycy.

Jednymi z najważniejszych powikłań cukrzycy są powikłania mikronaczyniowe, uszkadzające drobne naczynia krwionośne. Zmiany w największym stopniu dotyczą komórek śródbłoka, w których obserwuje się szereg zmian funkcjonalnych, biochemicznych oraz strukturalnych, objawiających się obniżoną proliferacją komórek, zaburzoną migracją oraz upośledzonym gojeniem się ran. Badania wykazały, że zmianom tym towarzyszą zmiany w poziomie miRNA. Jednym z miRNA, którego poziom jest podwyższony to hsa-miR-221-3p. Udowodniono, że blokowanie tej cząsteczki pobudza migrację komórek hodowanych w warunkach hiperglikemicznych. W testowanym układzie cząsteczka ta będzie załadowana do sztucznych egzosomów.

Badany układ będzie przeznaczony do celowanego dostarczania substancji do komórek śródbłoka. W związku z tym zdecydowano, że sztuczne egzosomy zostaną pokryte białkiem Del-1 (Developmental endothelial locus -1), które jest wydzielane przez komórki śródbłoka i łącząc się z mikropęcherzykami pośredniczy w procesie wnikania tych cząsteczek do komórek.

W ramach projektu zostaną zsyntezowane sztuczne egzosomy. Pokryte białkiem cząsteczki o różnych proporcjach podstawowego składu lipidowego oraz różnej wielkości zostaną poddane charakterystyce strukturalnej oraz funkcjonalnej. Zostaną zbadane parametry takie jak: wielkość, rozkład wielkości, kształt, wartość ładunku powierzchniowego, czy stabilność układu. Dodatkowo zostaną przeprowadzone badania wpływu oddziaływania z białkami osocza na właściwości analizowanych układów. Układy te są przeznaczone do zastosowań terapeutycznych, dlatego jednym z etapów analizy będzie zbadanie cytotoksyczności sztucznych egzosomów.

Wybrana do dalszych testów grupa układów zostanie załadowana anti-miR-221-3p, a układ będzie poddany testom funkcjonalnym. Zostanie zbadane pobieranie sztucznych egzosomów przez komórki śródbłoka. Testy będą również obejmowały badanie wpływu anti-miR-221-3p na zachowanie się komórek – ich migrację. Sprawdzony zostanie także wpływ cząsteczki na poziom zewnątrzkomórkowych enzymów – metaloproteinaz, których podwyższony poziom obserwowany jest w cukrzycy. Taki sam zestaw testów zostanie przeprowadzony z użyciem naturalnych egzosomów wyizolowanych z medium hodowlanego komórek śródbłoka. Testy te będą miały na celu określenie różnic w wydajności dostarczania substancji czynnych przez sztuczne egzosomy w porównaniu do naturalnych.

Dokładna charakterystyka różnych kombinacji układu pozwoli ocenić, jak zmiany składu lipidowego wpływają na oceniane parametry cząstek, dodatkowo pozwolą wybrać kompozycję najbardziej pożądaną ze względu na dostarczanie biologicznie aktywnych cząsteczek. Badania pozwolą również ocenić aktywność biologiczną sztucznych egzosomów.