

Panowanie nad homeostazą naszego organizmu nie byłoby możliwe bez dobrze rozwiniętego wewnętrznego systemu przekazywania informacji pomiędzy różnymi komórkami na dalekie odległości, do innych tkanek, narządów, czy organów. Nośnikami tych informacji w organizmach żywych są **mikropęcherzyki zewnątrzkomórkowe**. Mikropęcherzyki są różnicowaną grupą kulistych cząsteczek utworzonych z dwuwarstw lipidowych. Najmniejszych z nich – **egzosomy**, których średnica mieści się w przedziale 30 -100 nm powstają we wnętrzu komórki, w ciałkach wielopęcherzykowych i z nich uwalniane są do przestrzeni zewnątrzkomórkowej. W zależności od tego, z jakiej komórki pochodzą różnią się składem, wielkością oraz koncentracją w płynach ustrojowych. Mikropęcherzyki niosą w sobie informacje zakodowane w postaci różnego składu lipidowego, białkowego oraz za pomocą kwasów nukleinowych – RNA i DNA. Jednym z najważniejszych z nich są cząsteczki miRNA, które są krótkimi (17-20 nukleotydów) fragmentami RNA, posiadającymi zdolność regulacji ekspresji genów.

W ramach projektu planowana jest synteza i charakterystyka **sztucznych egzosomów** do celowanego dostarczania miRNA do komórek śródbłonna na modelu cukrzycy. Jednymi z najważniejszych powikłań cukrzycy są powikłania mikronaczyniowe, uszkadzające drobne naczynia krwionośne. Komórkami w największym stopniu uszkodzonymi w wyniku podwyższonych poziomów glukozy są komórki śródbłonna. W wyniku ich uszkodzenia dochodzi do pojawienia się szeregu 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 jest **miR-221-3p**. Udowodniono, że możliwe jest blokowanie aktywności tej cząsteczki, co prowadzi do pobudzenia migracji komórek śródbłonna hodowanych w warunkach hiperglikemicznych. W zaprojektowanym przeze mnie nośniku cząsteczka ta będzie wprowadzona do sztucznych egzosomów. Dzięki temu, że sztuczne egzosomy zostaną pokryte białkiem **Del-1** (Developmental endothelial locus -1), które jest wydzielane przez komórki śródbłonna i łącząc się z mikropęcherzykami pośredniczy w procesie wnikania tych cząsteczek do komórek badany układ będzie specyficznie je rozpoznawał.

W ramach prowadzonych badań sztuczne egzosomy pokryte białkiem są poddawane charakterystyce strukturalnej oraz funkcjonalnej. Badane są takie parametry układu jak: wielkość, rozkład wielkości, morfologia, wartość ładunku powierzchniowego, czy stabilność układu. Dodatkowo przeprowadzone są badania wpływu oddziaływania z białkami osocza na właściwości analizowanych układów. Układy te są przeznaczone do zastosowań terapeutycznych, dlatego jednym z etapów analizy jest sprawdzenie czy nie mają one właściwości cytotoksycznych. W kolejnych etapach badań, z pośród różnych kompozycji zostanie wybrana grupa o najlepszych właściwościach. Do tych układów wprowadzany będzie fragment inhibitora miR-221-3p (anty-miR-221-3p), a układ będzie poddany testom funkcjonalnym. Zostanie zbadane pobieranie sztucznych egzosomów przez komórki śródbłonna. Testy będą również obejmowały badanie wpływu anti-miR-221-3p na zachowanie się komórek – ich migracje oraz zdolność tworzenia nowych naczyń krwionośnych – angiogenezę. Sprawdzony zostanie także wpływ cząsteczki na poziom zewnątrzkomórkowych enzymów – metaloproteinaz, których podwyższony poziom obserwowany jest w cukrzycy oraz ekspresja genów, które są pod kontrolą blokowanego miRNA. Taki sam zestaw testów zostanie przeprowadzony z użyciem naturalnych egzosomów wyizolowanych z medium hodowlanego komórek śródbłonna. 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.