

Komórki śródbłonna tworzą największy narząd wewnątrzwydzielniczy w organizmie, pokrywający ogromne, wewnętrzne powierzchnie całego układu sercowo-naczyniowego. Z kolei dysfunkcja śródbłonna (DŚ) jest cechą charakterystyczną wielu chorób i może być traktowana jako barometr ryzyka sercowo-naczyniowego. Ponadto badania nad rozwojem DŚ u myszy *in vivo*, stanowiących podstawowy model w badaniach przedklinicznych, mają zasadnicze znaczenie dla lepszego zrozumienia roli komórek śródbłonna w progresji choroby, wskazania leków o szkodliwym lub korzystnym wpływie na śródbłonek lub identyfikacji wrażliwych parametrów DŚ. Obecnie różne testy są wykorzystywane do oceny fenotypu śródbłonna, ale większość z nich nie nadaje się do wczesnego wykrywania DŚ. Jednak opierając się na naszych wstępnych wynikach, stawiamy hipotezę, że spośród wielu metod pomiaru DŚ, ocena zmian przepuszczalności może stanowić jedno z najbardziej czułych narzędzi do wykrywania zmian w fenotypie śródbłonna, ale ta ścieżka nie była dalej badana i stanowi przedmiot niniejszego projektu. Liczba publikacji opisujących przedkliniczne badania przepuszczalności śródbłonna *in vivo* u myszy jest ograniczona ze względu na konieczność stosowania specjalistycznych narzędzi i metodologii. Jedną z metod umożliwiających wykrycie zmian przepuszczalności śródbłonna *in vivo* jest ocena akumulacji gadolinowego środka kontrastowego (ŚK) w ścianie naczynia, metodą obrazowania magnetyczno-rezonansowego (MRI). Jednak nadal brakuje wrażliwych ŚK, które są wychwytywane przez śródbłonek w podobny sposób jak lipoproteiny o małej gęstości (LDLs), naśladując patofizjologiczne procesy, we wczesnym stadium zwiększonej przepuszczalności śródbłonna, w miażdżycy tętnic.

Zatem, ogólnym celem tego projektu jest: po pierwsze, opracowanie zoptymalizowanej, opartej na MRI metodologii oceny przepuszczalności śródbłonna w modelach mysich *in vivo*, a po drugie wykorzystanie tej ulepszonej metody do scharakteryzowania zmian przepuszczalności śródbłonna *in vivo* wywołanych rozwojem choroby i w odpowiedzi na farmakoterapię.

Akumulacja LDL w warstwie błony wewnętrznej tętnic stanowi kluczowy etap w rozwoju miażdżycy, dlatego w niniejszym projekcie optymalizacja ŚK będzie polegać na opracowaniu LDL-mimetycznego liposomalnego ŚK, w celu zwiększenia lokalnego stężenia ŚK w ścianie naczynia, wchłanianego podobnie jak LDL podczas zwiększonej przepuszczalności śródbłonna, w bardzo wczesnej fazie DŚ. W szczególności zostaną zmodyfikowane parametry fizykochemiczne liposomów, w tym rozmiar, skład, ładunek powierzchniowy lub dostępność powierzchni. Ponadto, w ramach optymalizacji, do liposomów zostanie przyłączony peptyd mimetyczny apolipoproteinę B100 (główne białko LDL). Podczas tych badań zostanie również zidentyfikowany mechanizm wychwytu ŚK w ścianie naczynia. Alternatywnie do obrazowania MR zwiększonej przepuszczalności śródbłonna wykrywanej jako zwiększony sygnał od nagromadzonych w ścianie naczynia liposomów obciążonych gadolinem, zastosowane zostanie również obrazowanie liposomów obciążonych 19-fluorem (¹⁹F), co może zapewnić bardziej czuły sposób wykrywania zmian przepuszczalności śródbłonna, z powodu braku sygnału tła 19F w organizmie. W drugiej części projektu zoptymalizowana metodologia zostanie wykorzystana do oceny progresji zwiększonej przepuszczalności śródbłonna u myszy E3L.CETP, unikalnego mysiego modelu łagodnej hiperlipidemii, który wykazuje ludzki metabolizm lipoprotein i reprezentującego klinicznie istotny model DŚ. U myszy E3L.CETP długotrwały rozwój DŚ podsumowuje powolny postęp DŚ u ludzi z zależnymi od wieku zmianami w śródbłonku, przyspieszonymi przez łagodną hiperlipidemię. Nasze podejście pozwoli określić, czy ocena zwiększonej przepuszczalności śródbłonna umożliwia najwcześniejsze wykrycie DŚ, poprzedzając inne cechy DŚ. Zoptymalizowana metodologia MRI przepuszczalności śródbłonna zostanie również wykorzystana do przeprowadzenia badania *in vivo*, weryfikującego wpływ aktywatorów czynnika jądrowego 2 (Nrf2) na przepuszczalność śródbłonna, które pomimo korzystnego wpływu na śródbłonek, obserwowanego jako zmniejszenie produkcji reaktywnych form tlenu, wykazały zróżnicowany wpływ na funkcję bariery śródbłonkowej w ludzkim śródbłonku mikronaczyniowym. Ponadto zbadana zostanie rola szlaków endoteliny-1 i Nrf2 w regulacji przepuszczalności śródbłonna przez aktywatory Nrf2, czego dotychczas nie przeprowadzono.

Prezentowany projekt, poza walorami poznawczymi, ma również znaczenie metodologiczne. Badania przeprowadzone w ramach tego projektu dostarczą, metodologii istotnej z punktu widzenia patofizjologii, która pozwoli na wczesne wykrywanie DŚ, obszernych wyników zwiększających naszą wiedzę na temat znaczenia przepuszczalności śródbłonna jako markera wczesnego rozwoju DŚ *in vivo*, wyjaśnią mechanizmy wychwytu LDL-mimetycznego liposomalnego ŚK i zweryfikują opracowaną metodę w badaniach z udziałem myszy. Zgodnie z naszą najlepszą wiedzą, tego typu badania zostaną przeprowadzone po raz pierwszy z wykorzystaniem najnowocześniejszych metodologii, unikalnych modeli mysich i w sumie otworzą nowe perspektywy translacyjne.