

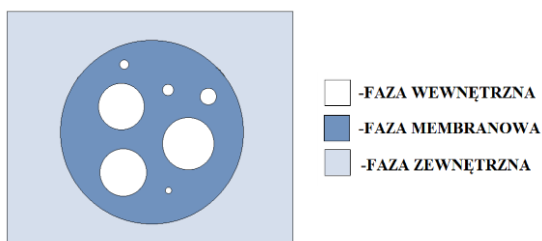
Streszczenie projektu – przeznaczone dla Doktoranta

Przedstawiony projekt pracy doktorskiej dotyczy problematyki związanej z opracowaniem nanoemulsji wielokrotnych jako inteligentnych nośników leków stosowanych w leczeniu nowotworów.

Zainteresowane osoby prosimy o kontakt z przyszłymi promotorami pracy – spotkanie pozwoli na bliższe poznanie proponowanej tematyki i daje możliwość zaprezentowania się obu stron, a szczególnie Kandydatki/Kandydata. Dane kontaktowe: tudek@ibb.waw.pl, e.dluska@ichip.pw.edu.pl

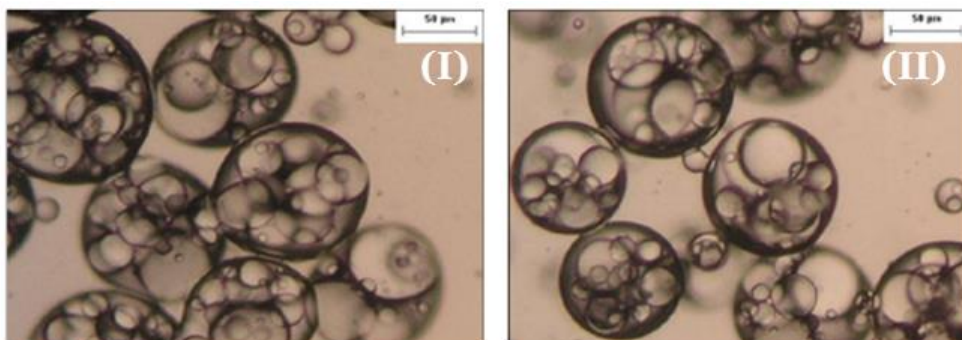
Definicja i cechy emulsji wielokrotnych jako nośników leków

Emulsje wielokrotne to układy przynajmniej dwóch wzajemnie nierozpuszczalnych cieczy, posiadające strukturę bardziej złożoną niż powszechnie znane emulsje proste typu krople oleju w wodzie, lub krople wody w oleju. W przypadku emulsji wielokrotnych mamy do czynienia ze strukturami typu „kropel w kroplach” (rysunek 1 i 2). Struktury takie umożliwiają zamykanie tzw. enkapsulację jednego lub kilku leków jednocześnie, a następnie uwalnianie ich w miejscu chorobowo zmienionym z szybkością i stężeniem zależnym od wielkości kropelek i parametrów fizykochemicznych cieczy tworzących emulsje takich jak lepkość, gęstość, itp. oraz leku. Możliwość zamykania w strukturze emulsji agresywnych chemioterapeutyków pozwala na minimalizację ich niekorzystnego wpływu na zdrowe komórki. W celu zwiększenia skuteczności terapii na powierzchniach kropelek można umieszczać substancje (przeciwciała) specyficznie rozpoznające receptory komórek nowotworowych – inteligentne nośniki (rys. 3), zagadnieniu temu poświęcona jest proponowana praca doktorska.

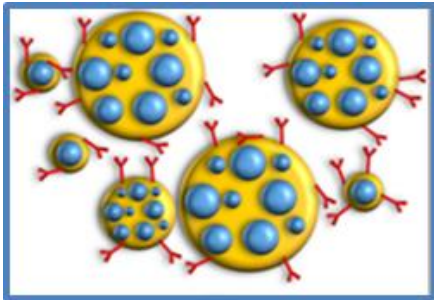


Rys. 1 Podstawowa struktura emulsji wielokrotnej.

Leki mogą być zamykane albo w fazie wewnętrznej stanowiącej jedną z cieczy emulsji np. wodę, albo w fazie membranowej będącej drugą cieczą np. olej, albo w obu tych fazach jednocześnie.



Rys. 2 Przykładowe zdjęcie farmaceutycznych emulsji wielokrotnych wytwarzanych w biokontaktorze z przepływem Couette'a-Taylora w warunkach pracy biokontaktora różniących się intensywnością mieszania cieczy: zdjęcie (I) 1830 obrotów /min, zdjęcie (II) 2330 obrotów/min



Rys. 3 Emulsyjne nanoonośniki z przeciwciałami na powierzchniach kropeł fazy membranowej

Cele pracy obejmują:

- Dobór składu nanoemulsji wielokrotnych (patrz rys. 1 i 2) oraz leków do wybranych terapii celowanych.
- Wytworzenie nanoemulsji z enkapsulowanymi w ich strukturach lekami w biokontaktorze z przepływem Couett'a-Taylora. Przepływ ten umożliwi wytworzenie złożonych struktur emulsyjnych dzięki intensyfikacji procesów wymiany masy i pędu zachodzących w badanych układach.
- Przeprowadzenie badań uwalniania leków z nanoemulsji w obecności i bez komórek nowotworowych: określenie mechanizmu uwalniania oraz zmian stężenia leku w czasie w środowisku modelującym płyny ustrojowe w warunkach obecności i bez komórek nowotworowych.
- Opracowanie metody umieszczania na powierzchniach kropeł przeciwciał, zdolnych do rozpoznawania receptorów komórek nowotworowych tj. opracowanie inteligentnych nanoemulsyjnych nośników leków (rys. 3).
- Poszukiwanie białek powierzchniowych specyficznych dla komórek nowotworowych: W badaniach będą używane różne linie komórek nowotworowych pochodzące z różnych narządów (takich jak trzustka, jajnik, jelito grube). Zostaną także kupione linie niezmiennych komórek pochodzące z tych samych narządów. Z komórek będą izolowane białka i poddane analizie spektrometrii mas, a także bioinformatycznej. Zostaną wybrane białka obecne w dużej ilości lub wyłącznie w komórkach nowotworowych, a nieobecne lub obecne w znacznie mniejszej ilości w komórkach niezmiennych pochodzących z tej samej tkanki. Różnice zostaną potwierdzone innymi metodami, jak Western blot.
- Przeprowadzenie badań uwalniania leków z inteligentnych nanoemulsji: badania mechanizmu i szybkości uwalniania leków.
 - Badanie skutków działania leków po działaniu inteligentnych nanoemulsji : Zostaną wykorzystane metody badania żywotności komórek w wyniku oddziaływania z nanoemulsjami (MTT lub Alamar Blue). Uwzględnia się także zastosowanie metod obrazowania, jak mikroskopia elektronowa lub konfokalna w celu lokalizacji emulsji w komórce. W takich badaniach będą użyte układy modelowe za znacznikami fluorescencyjnymi. Będą badane rodzaje śmierci, apoptoza nekroza i autofagia, a także senescencja (starzenie, tzn. zahamowanie podziałów i metabolizmu komórki). Markery tych zjawisk można badać analizą Western przy użyciu specyficznych przeciwciał.
- Porównanie wyników badań efektywności działania leków uwalnianych z nanoemulsji bez przeciwciał i nanoemulsji z przeciwciałami (umieszczonymi na powierzchniach kropeł) na komórki nowotworowe.

- Wykorzystanie modelu matematycznego do określenia szybkości uwalniania leku z inteligentnych nośników emulsyjnych. Proponuje się wykorzystanie istniejącego modelu matematycznego dyfuzyjnego uwalniania leków dla którego opracowana jest procedura obliczeniowa. Istnieje jednak możliwość rozbudowy modelu w zależności od zainteresowań i możliwości Kandydatki/Kandydata.

- Poszukiwanie nowych celów terapeutycznych: Naprawa DNA jest głównym mechanizmem wykorzystywanym przez komórki w obronie przed radio- i chemioterapią. Inhibitory niektórych enzymów naprawy DNA są obiecującym narzędziem do hamowania wzrostu i proliferacji komórek nowotworowych. Leki takie są jednak bardzo toksyczne także dla komórek niezmiennych, co powoduje bardzo ciężkie skutki uboczne i dlatego, np. inhibitory metylotransferazy O⁶-metyloguaniny (MGMT) zostały wycofane z prób klinicznych po 15 latach badań laboratoryjnych. Możliwość zamknięcia takich cząsteczek w nośniku, który preferencyjnie wiązałby się i wnikał tylko do komórek nowotworowych „omijając” niezmiennione mogłaby umożliwić użycie tych cząsteczek w próbach klinicznych. W planowanym projekcie inhibitory MGMT oraz innych enzymów, np. endonukleazy miejsc DNA pozbawionych zasad (nieinstrukcyjnych), APE1 będą zamykane w mniejszych wewnętrznych kroplach, a zewnętrzna duża kropla będzie zaopatrzona w przeciwciała rozpoznające określone komórki nowotworowe. Będzie badana przeżywalność komórek nowotworowych i niezmiennych w obecności takich nanoemulsji.