

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΝΑΝΟΔΟΜΗΜΕΝΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ ΒΙΟΜΟΡΙΩΝ ΔΙΑ ΜΕΣΟΥ ΒΛΕΝΝΩΔΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ

Ο. Καμμώνα², Κ. Καρύδη², Θ. Καραμανίδου¹, Ε. Σαμαρίδου¹, Β. Μπουργάνης¹, Κ. Κυπαρισσίδης^{1,2}

¹Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

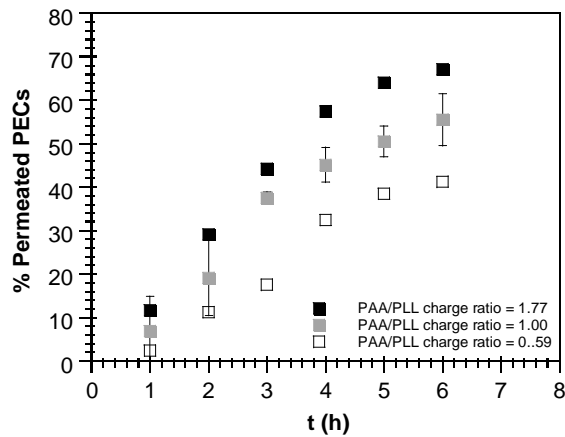
²Ινστιτούτο Χημικών Διεργασιών & Ενεργειακών Πόρων, ΕΚΕΤΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

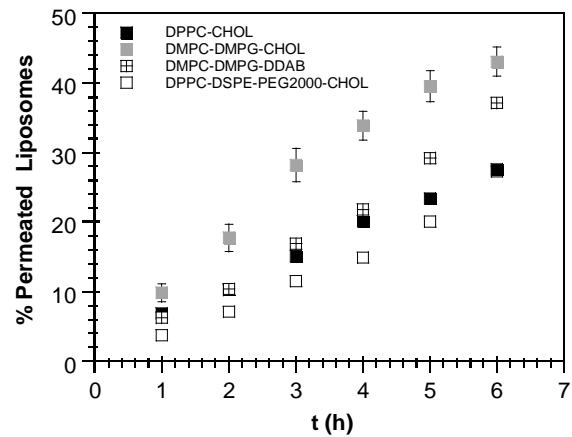
Η χορήγηση βιομορίων μέσω βλεννώδων μεμβρανών αποτελεί μια από τις μεγαλύτερες ερευνητικές προκλήσεις στον τομέα της μεταφοράς φαρμάκων καθώς τα βιομόρια είναι διαβόητα για τη χημική και βιολογική τους αστάθεια. Μέχρι σήμερα έχουν αναπτυχθεί διάφορα συστήματα μεταφοράς βιομορίων μέσω βλεννώδων μεμβρανών από τα οποία όμως κανένα δεν εμφανίζει την ικανότητα να διαπερνά τη βλέννα σε ικανοποιητικό βαθμό. Ωστόσο, η χρήση νανοφορέων για τη χορήγηση βιομορίων μέσω του βλεννογόνου (π.χ., εντερικού, οφθαλμικού, ρινικού, κολπικού, πνευμονικού, κλπ) έχει νόημα μόνο εάν οι φορείς αυτοί μπορούν να διαπερνούν επιτυχώς τη βλέννα που αποτελεί και το πρώτο εμπόδιο που συναντούν. Μικρά μόρια μπορούν εύκολα να μετακινηθούν στο τρισδιάστατο δίκτυο των γλυκοπρωτεϊνών της βλέννας που καλύπτει τα επιθηλιακά κύτταρα, ενώ αντίθετα το δίκτυο αυτό είναι σχεδόν αδιαπέραστο για μακρομόρια και νανοσωματίδια. Οι συνήθεις τεχνολογίες για διάβαση της βλέννας οδηγούν σε διάρρηξη του συνολικού βλεννώδους ιστού κάτι το οποίο είναι ανεπιθύμητο από τοξικολογικής άποψης. Για το λόγο αυτό κρίνεται απαραίτητη η ανάπτυξη στρατηγικών που επικεντρώνονται στην τοπική και επιλεκτική διάρρηξη της βλέννας (π.χ., ανάπτυξη νανοσωματιδίων με «ολισθηρή» επιφάνεια, επιφανειακή τροποποίηση νανοσωματιδίων με πρωτεολυτικά ένζυμα, ελεγχόμενη αποδέσμευση βλεννολυτικών παραγόντων, ανάπτυξη συστημάτων με μεταβαλλόμενο ζ δυναμικό, κλπ) για την αποτελεσματική χορήγηση βιομορίων μέσω βλεννώδων μεμβρανών.

Στην παρούσα μελέτη αναπτύχθηκαν διάφοροι τύποι νανοφορέων με ικανότητα να διαπερνούν τη βλέννα με βάση τις παραπάνω στρατηγικές. Πιο συγκεκριμένα, παρασκευάστηκαν νανοφορείς με «ολισθηρή» επιφάνεια (π.χ., νανοσωματίδια πολύ(γαλακτικού-γλυκολικού) οξέος - πολυαιθυλενογλυκόλης (PLGA-PEG) και σύμπλοκα πολυακρυλικού οξέος - πολυλυσίνης (PAA/PLL) και πολυακρυλικού οξέος - πολυαργινίνης (PAA/PArg)). Το επιφανειακό φορτίο των νανοσωματιδίων PLGA-PEG σε συνδυασμό με το μοριακό βάρος της πολυαιθυλενογλυκόλης (≤ 5 kDa) οδήγησε σε βελτίωση της διάχυσης των νανοσωματιδίων στη βλέννα σε σύγκριση με τα μη-τροποποιημένα νανοσωματίδια PLGA. Σύμπλοκα PAA/PLL και PAA/PArg με διαφορετικά επιφανειακά φορτία παρασκευάστηκαν επιτυχώς μεταβάλλοντας το λόγο φορτίου πολυανιόντος/πολυκατιόντος. Τα σύμπλοκα πολυηλεκτρολυτών με αρνητικό επιφανειακό φορτίο βρέθηκαν να εμφανίζουν υψηλότερα ποσοστά διαπερατότητας της βλέννας σε σχέση με τα ουδέτερα και τα θετικά φορτισμένα. Σχετικά με τον εγκλεισμό βλεννολυτικών παραγόντων σε νανοφορείς, παρασκευάστηκαν νανοσωματίδια PLGA και PLGA-PEG και λιποσώματα που φέρουν το βλεννολυτικό παράγοντα 4-μερκαπτοβενζοϊκό οξύ (4-MBA) σε υψηλά ποσοστά φόρτωσης (≤ 18.43 wt%). Τα νανοσωματίδια PLGA και PLGA-PEG χαρακτηρίστηκαν από γρήγορη αποδέσμευση του 4-MBA (>80 wt% σε 20 min) ενώ ο εγκλεισμός του βλεννολυτικού παράγοντα στα λιποσώματα επέτρεψε την ελεγχόμενη αποδέσμευσή του (≤ 30 wt% σε 45 min). Τα λιποσώματα που φέρουν 4-MBA βρέθηκαν να εμφανίζουν υψηλά ποσοστά διαπερατότητας της βλέννας εξαρτόμενα από το ρυθμό αποδέσμευσης του βλεννολυτικού παράγοντα και τη σύσταση της λιπιδικής διπλοστοιβάδας. Στα πλαίσια της παρούσας μελέτης πραγματοποιήθηκε επίσης επιφανειακή τροποποίηση νανοσωματιδίων PLGA με τα πρωτεολυτικά ένζυμα τρυψίνη, παπαΐνη και βρομελαΐνη. Τα πρωτεολυτικά ένζυμα βρέθηκαν να διατηρούν μερικώς την ενζυμική τους δραστηριότητα μετά από τη

σύζευξή τους με τα νανοσωματίδια και να ενισχύουν σημαντικά την ικανότητα των νανοσωματιδίων να διαπερνούν τη βλέννα. Τέλος, σύμφωνα με τη στρατηγική ανάπτυξης συστημάτων με μεταβαλλόμενο ζ δυναμικό (νανοφορείς με ικανότητα να μεταβάλλουν το επιφανειακό τους φορτίο από αρνητικό σε θετικό, αφού έχουν διαπεράσει τη βλέννα και έχουν φτάσει στα επιθηλιακά κύτταρα), παρασκευάστηκαν νανοσωματίδια PLGA που φέρουν στην επιφάνειά τους τριγλυταμικό οξύ (3-GLU). Τα αρνητικά φορτισμένα νανοσωματίδια βρέθηκαν να διαπερνούν τη βλέννα και να μεταβάλλουν επιτυχώς το ζ δυναμικό τους από αρνητικό σε θετικό παρουσία της γ-γλουταμυλ-καρβοξυπεπτιδάσης που βρίσκεται στο επιθήλιο και κόβει τμήμα του τριγλυταμικού οξέος.



(α)



(β)

Μελέτη της διάχυσης των συμπλόκων PAA/PLL (α) και των λιποσωμάτων που φέρουν το βλεννολυτικό παράγοντα 4-MBA (β) σε βλέννα που έχει εξαχθεί από εντερικό βλεννογόνο χοίρου.