

Urszula Kwolek

Pęcherzykowe struktury polimerowe oraz oddziaływania polimerów z membranami lipidowymi

Polielektrolity są obecnie bardzo intensywnie badaną grupą związków chemicznych. Swoją popularność zawdzięczają m. in. szerokim możliwościom wykorzystania ich w dziedzinach z pogranicza chemii, biologii i medycyny. Polielektrolity często opisywane są w kontekście tworzenia stabilnych nośników liposomowych, otrzymywania multiwarstw polimerowych z dwóch przeciwnie naładowanych polielektrolitów techniką „warstwa po warstwie”, otrzymywania nośników leków do terapii celowanej, tworzenia polipleksów wykorzystywanych do transfekcji DNA do komórek, itp. W każdym z tych zastosowań kluczową rolę odgrywa sposób, w jaki polielektrolit oddziałuje z błoną komórkową lub ze sztuczną membraną lipidową. W zależności od struktury i właściwości polimeru, ale również struktury i właściwości membrany lipidowej, efekt takiego oddziaływania może być różny.

W pierwszej części mojej pracy zostały przeprowadzone badania dotyczące wpływu wybranych polielektrolitów na membrany lipidowe. Skoncentrowałam się na dwóch, dość popularnych polielektrolitach, polietylenoiminie (PEI) i kwasie hialuronowym (HA).

W moich badaniach, membrany zbudowane z czystego lipidu zwitterjonowego – fosfatydylocholiny (PC) oraz z jego mieszaniny z kwasem fosfatydowym (PA) zostały przyjęte jako układy modelowe dla błon biologicznych. Dlatego w części pracy dotyczącej oddziaływań polimer – membrana lipidowa pokazano również badania na temat wpływu kwasu fosfatydowego na właściwości membrany zwitterjonowej. Doświadczenia i symulacje komputerowe oparte o metodę dynamiki molekularnej (MD), przeprowadzone dla membrany PC/PA, wykazały kondensujący (dla małych zawartości PA), bądź rozluźniający (dla większych ilości PA) efekt, wynikający z obecności PA w membranie zwitterjonowej. Mechanizm oddziaływania lipidów w membranie zmieniał się, wraz ze zmianą stopnia jonizacji anionowego lipidu (PA^- lub PA^{2-}).

Polietylenoimina jest słabym polikationem, powszechnie wykorzystywanym jako wektor w terapii genowej, co jednak nie oznacza, że jego wpływ na membranę lipidową jest dobrze zbadany i opisany. W związku z tym, mechanizm oddziaływania PEI z błoną lipidową nadal stanowi ciekawy temat, który podjęłam w swojej pracy, biorąc pod uwagę wpływ

architektury polimeru na sposób jego oddziaływania z membraną lipidową. Przeprowadzone doświadczenia i symulacje MD, pokazujące mechanizm oddziaływania polietylenoiminy z membraną lipidową, odniesiono do cytotoksyczności PEI. Stwierdzono, że cytotoksyczność tego polimeru jest najprawdopodobniej powodowana przez oddziaływanie dodatnio naładowanych grup polimeru z głowami lipidów. W efekcie tych oddziaływań zmienia się organizacja lipidów w membranie, co w dalszej perspektywie może to prowadzić do ruchów flip-flop i zmiany polaryzacji błony lipidowej.

Zbadano również oddziaływania PEI przeprowadzonej w mocny polikation z modelową membraną lipidową oraz z bakteriami. Otrzymany w wyniku syntezy rozgałęzionej PEI (bPEI) z jodkiem metylu, polimer bPEI-met, okazał się być dobrym czynnikiem antybakteryjnym w stosunku do bakterii Gram-dodatnich, natomiast w stosunku do bakterii Gram-ujemnych nie zaobserwowano takiego efektu.

Kwas hialuronowy jest naturalnym polianionem, znanym ze swojej biokompatybilności oraz zdolności do zatrzymywania dużych ilości wody, co sprzyja jego zastosowaniu m. in. w preparatach kosmetycznych i medycynie estetycznej. W swoich badaniach skupiłam się na możliwości stabilizacji liposomów pochodnymi HA, zawierającymi poliaminowy łańcuch, dołączony kowalencyjnie do głównego szkieletu polimeru. Sprawdzałam m. in. trwałość zmodyfikowanych w ten sposób liposomów w obecności białek surowicy ludzkiej oraz analizowałam sposób oddziaływania zastosowanych pochodnych HA z membraną lipidową. Badania pokazały, że dołączenie do HA krótkiej grupy poliaminowej naładowanej dodatnio, pozwala na oddziaływanie tak zmodyfikowanego polimeru z ujemnie naładowanymi membranami lipidowymi, modelowymi, bądź biologicznymi.

W drugiej części moich badań zajmowałam się stosunkowo nowym (2006 r.) i obiecującym przykładem zastosowania polielektrolitów, jakim jest otrzymywanie z nich struktur pęcherzykowych zwanych PICsomami. Nazwa PICsomy została wyprowadzona jako skrót od *Polyion Complex Vesicles*, co można przetłumaczyć jako pęcherzyki powstające w wyniku tworzenia się kompleksów pomiędzy polijonami. W celu otrzymania PICsomów wykorzystuje się parę kopolielektrolitów blokowych obdarzonych przeciwnymi ładunkami elektrostatycznymi, które w środowisku wodnym samoorganizują się, tworząc polimerosomy (pęcherzyki polimerowe). Tak otrzymywane pęcherzyki mają szereg zalet, w szczególności, na tle konwencjonalnych polimerosomów, uzyskiwanych z cząsteczek amfifilowych, wyróżniają się tym, że są biokompatybilne, trwałe i nie wymagają użycia rozpuszczalników

organicznych na etapie ich przygotowania. Sama struktura pęcherzykowa ponadto daje możliwość zamykania w nich różnych substancji.

W tej części pracy, do uzyskiwania pęcherzyków wykorzystywałam dwa mocne kopolielektrolity o charakterze jonowo-zwitterjonowym. Oba kopolielektrolity miały w swojej strukturze jednakowe bloki zwitterjonowe, zawierające grupy, które naturalnie występują w błonach komórkowych oraz bloki jonowe o ładunku dodatnim lub ujemnym. Moim głównym celem było zbadanie stabilności oraz biokompatybilności takich pęcherzyków, jak również zamknięcie w nich substancji. Przeprowadzone badania pozwoliły na stwierdzenie, że otrzymywane pęcherzyki cechują się dużą stabilnością w różnych warunkach środowiska (zmiany pH, temperatury, obecność białek surowicy, dodatek surfaktanta niejonowego), w szczególności są stabilne w warunkach fizjologicznych. Wyniki badań, dotyczących zamykania w pęcherzykach małocząsteczkowego barwnika, kalceiny, bądź superparamagnetycznych nanocząstek tlenku żelaza, SPION, są dość obiecujące. Badania wpływu polimerosomów na żywotność i proliferację ludzkich fibroblastów skóry, potwierdzają biokompatybilność otrzymywanych struktur. Wydaje się zatem, że przedstawione polimerosomy mogłyby być potencjalnie użyteczne jako układ do dostarczania substancji.

Podsumowując całą pracę, przeprowadzone badania pozwoliły na poszerzenie wiedzy na temat oddziaływań polimer – membrana oraz na temat właściwości pęcherzyków otrzymywanych w oparciu o kompleksy polijonowe (tzw. PICsomów). Wyniki przedstawione w pracy dotyczą zarówno badań podstawowych, jak również aplikacji badanych układów.