

### **Popularnonaukowe streszczenie projektu**

Główną motywacją projektu jest pilna potrzeba opracowania nowoczesnej metody leczenia nieswoistych zapaleń jelit (NZJ), których przyczyna pozostaje nieznana. NZJ to skomplikowane dolegliwości będące skutkiem działania czynników środowiskowych i genetycznych, prowadzących do zaburzeń odpowiedzi odpornościowych i powstawania stanu zapalnego w jelitach. Choroby te są najczęściej diagnozowane u młodych pacjentów w wieku od 15 do 30 lat. Zazwyczaj charakteryzują się one nawracająco-ustępującym przebiegiem, z objawami takimi jak biegunka i bóle brzucha. NZJ mogą prowadzić do poważnych powikłań pozajelitowych, takich jak artropatie małych i dużych stawów obwodowych, pierwotne stwardniające zapalenie dróg żółciowych czy zakrzepica żył głębokich. W skrajnych przypadkach może dochodzić do zwiększonego ryzyka raka jelita grubego. Do tej pory nie opracowano w pełni skutecznej metody leczenia.

Mesalazyna (kwas 5-aminosalicylowy, 5-ASA) jest jednym z podstawowych leków stosowanych obecnie w terapii NZJ. Jej główna aktywność przeciwzapalna polega na hamowaniu szlaku sygnałowego jądrowego czynnika- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), kompleksu białkowego regulującego transkrypcję i odgrywającego kluczową rolę w kontroli mechanizmów odpornościowych, jak wytwarzanie cytokin i chemokin. Lek jest także skutecznym zmiataczem wolnych rodników oraz inhibitorem cyklooksygenaz i syntezy prostaglandyn. Niestety możliwość zastosowania 5-ASA jest ograniczona ze względu na jej szybką inaktywację i usuwanie z organizmu, a także potrzebę wydajnego, zależnego od transporterów błonowych dokomórkowego wychwytu leku, koniecznego dla jego aktywności terapeutycznej. Stosowanie 5-ASA powoduje również liczne efekty uboczne, obejmujące mielosupresję oraz wyniszczające działanie na układ nerwowy, sercowo-naczyniowy, trawienny i wydalniczy, co dodatkowo ogranicza skuteczność terapii.

Aby zwiększyć stężenie jelitowe leku i poprawić wydajność terapii, opracowano kilka preparatów i nośników mesalazyny. Obecne badania mają na celu zastosowanie innowacyjnych mikro- i nanonośników, spośród których dendrymery przyciągają szczególną uwagę. Ze względu na ich symetryczną strukturę i kulisty kształt z licznymi odgałęzieniami zakończonymi ugrupowaniami chemicznymi, nanocząstki te charakteryzują się wysoką rozpuszczalnością i zdolnością do przekraczania barier biologicznych, umożliwiając efektywny wychwyt dokomórkowy. Grupy zewnętrzne są zazwyczaj wysoce reaktywne i mogą być modyfikowane w celu zmiany właściwości fizykochemicznych dendrymeru lub w celu wygenerowania pożądanej aktywności, np. terapeutycznej lub katalitycznej. Wykazano, że koniugacja leków z dendrymerem zwiększa ich rozpuszczalność, wydłuża czas półtrwania w organizmie i chroni przed degradacją. Takie konstrukty są zdolne do wydajnego transportu leków bezpośrednio do miejsca ich działania, przyczyniając się w ten sposób do eliminacji niepożądanych skutków ubocznych. Wiązanie kowalencyjne może zapewniać wyższą stabilność w porównaniu z niekowalencyjnymi kompleksami, a także kontrolowane, enzymatyczne lub aktywowane zmianą pH uwalnianie leku w miejscu działania, dając szansę na zmniejszenie dawki przy zachowaniu efektu terapeutycznego. Wszystkie te cechy sprawiają, że dendrymery są obiecującymi kandydatami na nanonośniki mesalazyny.

**Niniejszy projekt ma na celu opracowanie innowacyjnego nanonośnika 5-ASA w oparciu o dendrymer poli(amidoaminowy) (PAMAM) czwartej generacji (G4) dla uzyskania wyższych stężeń mesalazyny w komórkach nabłonka jelit, zwiększając w ten sposób jej potencjał przeciwzapalny. Projekt obejmuje syntezę i charakterystykę *in vitro* kowalencyjnego koniugatu nanocząstki PAMAM G4 z wieloma cząsteczkami mesalazyny, połączonych przy użyciu reszty kwasu bursztynowego. Doświadczenia będą prowadzone w dwóch modelach komórkowych nabłonka jelitowego, CaCo-2 i HT-29. Modele stanu zapalnego zostaną wygenerowane przez inkubację komórek ze znanymi aktywatorami prozapalnymi. Zbadane zostaną parametry związane z przeciwzapalną aktywnością leku: hamowanie szlaku sygnałowego NF- $\kappa$ B, syntezy cytokin i prostaglandyn oraz usuwanie wolnych rodników. Wybrane doświadczenia będą powtórzone w obecności inhibitorów dokomórkowego transportu mesalazyny w celu pełnej charakterystyki potencjału terapeutycznego PAMAM-5-ASA. Zbadane zostanie również uwalnianie leku z koniugatu oraz kinetyka i wydajność dokomórkowego wychwytu leku i koniugatu w obecności lub bez inhibitorów transporterów błonowych.**

Zastosowanie dendrymeru PAMAM jako transportera mesalazyny może zwiększyć rozpuszczalność, a tym samym biodostępność leku. Kowalencyjne wiązanie ma na celu ochronę 5-ASA przed inaktywacją i przedwczesnym uwalnianiem z nośnika. Koniugat może także usprawnić transport dokomórkowy leku eliminując potrzebę zaangażowania transporterów błonowych. Wszystkie te cechy mogą potencjalnie przelożyć się na poprawę skuteczności działania mesalazyny. Zastosowanie nowoczesnych metod biologii molekularnej pozwoli w pełni scharakteryzować aktywność zarówno samego leku, jak i koniugatu lek-dendrymer, pomagając w ten sposób wypełnić luki w wiedzy dotyczącej centralnych zagadnień projektu.