

Prosjektoppgaver høsten 2012

Ved Inst for fysikk, Seksjon for biofysikk og medisinsk teknologi.

Faglærer: professor Catharina de Lange Davies

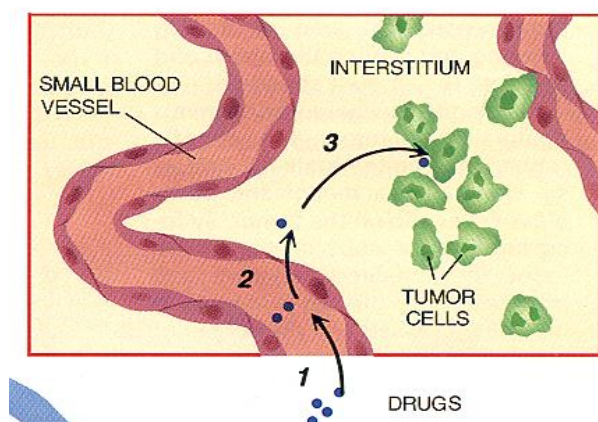
Delivery of nanoparticles in tumour cells and tissue

<http://www.ntnu.no/fysikk/medphys/drugdelivery>

Bakgrunn

Et av hovedproblemene ved konvensjonell kreftbehandling som stråleterapi og kjemoterapi, er at behandlingene ikke er spesifikke for kreftcellene. Den ioniserende strålingen og cellegiften ødelegger både normalt vev og kreftvev, og skadene på normalt vev begrenser dosene som kan benyttes.

Nanomedisin kan bidra til å løse dette problemet, idet nanomedisin vil tas opp i større grad i svulster sammenliknet med normalt friskt vev. Med nanomedisin forstås i denne sammenheng nanopartikler inneholdende cellegift, monoklonale antistoffer som binder seg til kreftspesifikke antigener på overflaten av kreftcellene, eller nukleinsyrer som DNA eller siRNA. Nanomedisin tas opp mer selektivt i kreftvev enn i normalt vev fordi blodårene i en svulst er mer lekke enn normale blodårer. Nanopartikler på opptil ett par hundre nm vil derfor passere blodårevæggen i en svulst, men ikke i normal blodårer. Felles for nanomedisin er at de er molekyler med en diameter i størrelsesorden 10 til 10.000 nm, mens konvensjonelle cellegifter er små molekyler med diameter under 1 nm. Nanomedisin vil derfor ha langt større problemer med å nå fram til kreftcellene enn cellegift, og det er vist at bare en liten del av makromolekylene som injiseres intravenøst eller gis oralt når fram til kreftvevet. Om de skal lykkes å nå fram og drepe kreftcellene avhenger av at det er et godt utviklet blodårenettverk i svulsten, at molekylene kan passere over kapillærvæggen og at de er i stand til å trenge gjennom rommet mellom kreft cellene (kalt ekstracellulær matrix (ECM) eller interstitium). Disse transport-etappene avhenger av diffusjon der fluksen av molekylet er proporsjonal med konsentrasjonsgradienten og konveksjon der fluksen av molekylet er proporsjonal med den hydrostatiske trykkgradienten. Det er vist at svulster har et høyere interstitielt væsketrykk enn normalt vev, og dette er et av hovedproblemene for å få nanomedisin fram til kreftcellene. Diffusjon kan derfor være den primære transportmekanismen. Diffusjon er imidlertid en ekstrem sein prosess for store molekyler og diffusjonskoeffisienten avtar med økende molekylvekt.



Cellegiftenes vei fram til kreftcellen er komplisert og avhenger av:

1. Blodårenettverket
2. Transport over blodårevæggen
3. Transport gjennom interstitium fram til hver celle

Disse transportetappene drives av to fysiske prosesser:

- Diffusjon på grunn av konsentrasjonsforskjeller
- Trykkforskjeller

Vi jobber med å kombinere levering av nanomedisin med andre behandlinger for å øke opptaket og forbedre distribusjonen av nanomedisin i svulster. Ultralyd er en behandling som har vist lovende resultater for å forbedre levering av nanomedisin.

Ultralyd kan forbedre levering av nanomedisin på følgende måter:

- a) Ultralyd kan øke frigjøringen av cellegift fra nanopartikler
- b) Diffusjonen gjennom ekstracellulær matrix kan økes ved at temperaturen økes
- c) Ultralyd induserer kavitasjon (oscillasjon av gassbobler) som danner lokale jetstrømmer og trykkgradienter. Jetstrømmene bidrar til bedre penetrasjon gjennom ekstracellulær matrix og danner porer i plasmamembranen slik at opptaket i cellen øker.

Ultralyd er særlig effektiv i nærvær av gassbobler idet gassbobler induserer kavitasjon. Imidlertid er gassboblene normalt noen mikrometer i diameter og kan dermed ikke passere blodårevæggen.

Det er for tiden 4 stipendiater og en post doc som jobber med dette prosjektet. Prosjektet er et samarbeid Bjørn Angelsen og hans gruppe ved Inst for sirkulasjon og billeddiagnostikk ved Det medisinske fakultet, og professor Bjørn Skallerud ved Inst. for konstruksjonsteknikk VT-fak. Prosjektet står omtalt i februar 2010 nummer av Gemini.

Det vil bli tilbud tre masteroppgaver innen prosjektet Ultralyd og levering av legemidler.

Karakterisering av nanopartikler og gassbobler

Veileder: Yrr Asbjørg Mørch, PhD (Inst for fysikk, NTNU/SINTEF Materialer og Kjemi, tel: 402 34 744, e-post: yrr.morch@ntnu.no)

Faglærer: Professor Catharina Davies

Gassbobler stabilisert med nanopartikler kan kombinere diagnose og terapi av kreft. Kreftmedisin kapsles inn i nanopartikler (100-300 nm i diameter) og sørger for mer effektiv og målrettet medisinerings. Ved SINTEF Materialer og Kjemi har man laget nanopartikler av en syntetisk polymer som også har vist seg å stabilisere gassbobler (2-10 μm i diameter). Slike gassbobler kan brukes som kontrastmiddel ved ultralydavgivning av små blodkar og dermed brukes i kreftdiagnostikk. I tillegg kan ultralyd og gassbobler bidra til en mer effektiv behandling som beskrevet over.

Det er oscillerende av gassbobler som gir kontrast ved ultralydbehandling. Elastisiteten av gassbobleskallet vil derfor være avgjørende for gassboblens egenskaper som kontrastmiddel. I denne sammenhengen er det av stor interesse å kartlegge de mekaniske (elastiske) egenskapene til gassbobler stabilisert med ulike typer nanopartikler. I tillegg vil gassboblens størrelse og størrelsesfordeling være av stor betydning. Videre er det ønskelig å kartlegge de mekaniske egenskapene (bruddstyrken) til nanopartiklene da dette vil være viktig informasjon i forhold til mulig frigjøring av cellegift ved ultralydbehandling.

Masteroppgaven vil omfatte følgende:

1) Karakterisering av gassbobler – størrelse og stabilitet

Vi ønsker å studere antall, størrelse, og størrelsesfordeling av gassbobler som funksjon av størrelse/type nanopartikler, ultralydbehandling, sentrifugering og lagring over tid. Analysen gjøres vha en Coulter Counter partikkelteller.

2) Karakterisering av gassbobler – nanomekaniske egenskaper

Vi ønsker å studere de nanomekaniske egenskapene til gassbobler i væskefase ved bruk av ”nanoindentation”. Til dette bruker vi Atomic Force Microscope (AFM) og TriboIndenter.

3) Karakterisering av nanopartikler – nanomekaniske egenskaper

Nanoindentation skal videre brukes til å måle de mekaniske egenskapene til nanopartikler. Vi ønsker å måle både bruddstyrke og elastisitet av partiklene (Young’s Modulus).

Oppgaven er et samarbeid mellom Inst. for fysikk (NT-fak), Inst. for konstruksjonsteknikk (IVT-fak) og SINTEF Materialer og kjemi.

Opptak av nanopartikler i celler og distribusjonen intracellulært

Veileder: Mercy Afadzi (mercy.afadzi@ntnu.no), Catharina Davies (catharina.davies@ntnu.no)

Opptaket og intracellulær distribusjon av nanopartiklene laget ved SINTEF Materialer og kjemi (se over) vil bli studert ved flow cytometri og konfokal laser scanning mikroskopi. Nanopartiklene inneholder et fluorescerende fargestoff slik at de kan registreres med flow cytometri og avbildes med konfokal laser scanning mikroskopi. Celler blir inkubert med nanopartikler alene eller bundet til gassbobler og opptaket i celler etter ulike ultralydeksponeringer (varierer frekvens, akustisk trykk, puls lengde og puls frekvens, total eksponeringstid) vil bli målt. Distribusjonen av nanopartikler i celler vil bli studert. Den vanligste opptakmekanismen i celler er klatrin-mediert endocytose og nanopartiklene går da til endosomer og lysosomer. Kolokalisasjon med nanopartikler/fargestoffet de inneholder og endosomer og lysosomer vil bli studert.

Målet med oppgaven er å bestemme:

1. Optimal ultralyd eksponering for økt opptak av nanopartikler i celler
2. Sammenlikne opptaket i celler med og uten gassbobler
3. Bestemme om nanopartiklene/fluorescerende fargestoff de inneholder går til endosomer og lysosomer.

Opptaket og distribusjon av nanopartikler og cellegift i svulster som gror i mus.

Veileder: Siv Eggen (siv.eggen@ntnu.no), Catharina Davies (catharina.davies@ntnu.no)

Distribusjonen av nanopartikler laget ved SINTEF Materialer og kjemi (se over) i svulstvev vil bli studert med konfokal laser scanning mikroskopi. Nanopartikler med fluorescerende fargestoff injiseres intravenøst i mus som har en svulst. Svulsten eksponeres for ultralyd ved ulike tidspunkt etter injeksjonen. Musen avlives, svulsten tas ut og det prepareres frysesnitt av svulsten. Studentens oppgave blir å mikroskopere frysesnittene med konfokal laser scanning mikroskopi for å studere distribusjonen i vevet av de fluorescensmerkede nanopartiklene og det fluorescerende fargestoffet frigjort fra nanopartiklene. Målet med oppgaven er

1. bestemme optimale ultralyd parametere som øker både transporten av nanopartikler over blodåreveggen og
2. som øker penetrasjonen gjennom ekstracellulær matrix.
3. Sammenlikne distribusjonen i vev når nanopartiklene er injisert alene og når de er koplet til gassbobler.