

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2011-1/155

ZAKLJUČNO POROČILO O REZULTATIH RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

Šifra projekta	J7-0337
Naslov projekta	Izdelava in karakterizacija fuzogenih koloidnih nanodelcev za učinkovit prenos učinkovin v celice
Vodja projekta	1119 Marjeta Šentjurc
Tip projekta	J Temeljni projekt
Obseg raziskovalnih ur	4.170
Cenovni razred	D
Trajanje projekta	02.2008 - 01.2011
Nosilna raziskovalna organizacija	106 Institut "Jožef Stefan"
Raziskovalne organizacije - soizvajalke	787 Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo
Družbeno-ekonomski cilj	13. Splošni napredek znanja - RiR financiran iz drugih virov (ne iz splošnih univerzitetnih fondov - SUF)

1.1. Družbeno-ekonomski cilj¹

Šifra	07.
Naziv	Zdravje

2. Sofinancerji²

1.	Naziv	
	Naslov	
2.	Naziv	
	Naslov	
3.	Naziv	
	Naslov	

B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

3. Poročilo o realizaciji programa raziskovalnega projekta³

Alkilfosfolipidi (APL) so nova vrsta kemoterapevtikov, ki ne napadajo DNK temveč delujejo na nivoju celične membrane. Zaradi neželenih stranskih učinkov je potrebno poiskati formulacijo, ki bi omogočala optimalno ravnotežje med kancerostatično učinkovitostjo in stranskimi učinki. Naša hipoteza je bila, da bi s primerno sestavo liposomov z APL omogočili fuzijo liposomov s celicami, na ta način povečali akumulacijo APL v plazemski membrani in s tem povečali citotoksičnost. V našem delu smo se osredotočili na alkilfosfolipid perifosin (OPP) (oktadecil(1,1-dimetil-4-piperidin-4-yl)fosfat), ki kaže vzpodbudne rezultate v terapiji tumorjev dojke. Vendar pa dosedanje raziskave kažejo, da je v in vivo pogojih opaziti učinek samo v tumorjih dojke brez hormonskih receptorjev, medtem ko v tumorjih z receptorji ni bilo učinka.

Da bi bolje razumeli mehanizem delovanja OPP in preverili našo hipotezo smo proučevali interakcijo samih OPP, za katere je značilno da v raztopini tvorijo micele, in liposomskih pripravkov različne sestave z vgrajenim OPP, z dvema celičnima linijama dojke: MT3, ki nimajo estrogenih receptorjev in MCF7 z estrogenimi receptorji. Za študij prenosa OPP iz membrane v citoplazmo in iz liposomov v celic smo sintetizirali spinsko označene OPP z nitroksidno skupino na različnih mestih na alkilni verigi in proučevali kinetiko redukcije spinsko označene OPP po prehodu v citoplazmo in po inkubaciji liposomov s celicami ali modelnimi liposomi. (bo objavljeno v poglavju knjige »Breast cancer cells«)

1. Interakcija micelarne OPP z celicami.

1.a. Vpliv na fluidnost celične membrane: MCF7 in MT3 celice smo inkubirali z OPP (25, 50 in 150 μM končna koncentracija) in z metodo elektronske paramagnetne resonance in spinskima označevalcema: metilestrom doksilpamitata z nitroksidno skupino na 5 C atomu alkilne verige (MeFASL(10,3)) in spinsko označenim OPP z nitroksidno skupino na 5 C atomu (5P) spremljali spremembe v fluidnosti membrane po dodatku OPP. Z MeFASL(10,3) nismo opazili signifikantnih razlik po dodatku 25 in 50 μM OPP, s 5P, ki se veže bližje vodno-lipidne meje pa smo zaznali minimalne spremembe pri 50 μM OPP, pri 150 μM OPP pa se je fluidnost membrane signifikantno zmanjšala. Spremembe v fluidnosti membran MT3 celic so bile večje kot pri MCF7 celicah, ki imajo EG receptorje.

1.b. Transport OPP v celico: Za tovrstne študije smo izbrali spinsko označen OPP (5P), ki ima kritično micelarno koncentracijo (CMC) najbolj podobno CMC samega perifosina. Sklepali smo, da bo taka molekula najboljše ponazorila interakcijo OPP s celicami. Z metodo EPR smo spremljali kinetiko redukcije nitroksidne skupine, do katere pride, ko 5P preide iz plazmatske membrane v notranjost celice kjer ga oksi-redoksi mehanizmi (encimi dihalne verige, natrijev askorbat ...) reducirajo v hidroksilamin, ki ga s EPR ne vidimo. To ima za posledico da intenziteta EPR spektra s časom pada. Iz spremembe v intenziteti EPR spektra smo izračunali reakcijsko konstanto zaradi prehoda molekule v celice in konstanto redukcije nitroksida v celici. Konstanta redukcije v celici je za obe vrsti celic enaka, reakcijska konstanta zaradi prehoda v celico pa je pri sobni temperaturi nekoliko večja za MT3 celice kot za MCF7, pri fizioloških pogojih pa se prehod v notranjost celic pri MCF7 celicah močno poveča in je dvakrat večji kot za MT3 celice. Izmerili smo tudi fluidnost celičnih membran in s primerno računalniško obdelavo določili domensko strukturo in lastnosti domen za MT3 in MCF7 celice. Ugotovili smo, da imajo MT3 celice nekoliko večjo fluidnost kot MCF7 celice, kar se odraža v večjem ureditvenem parametru vseh vrst domen v membranah MCF7 celic.

2. Interakcija OPP liposomov različne sestave z modelnimi membranami in celicami**2.1. Vpliv sestave na domensko strukturo OPP liposomov**

Pripravili smo liposome iz OPP, in različne koncentracije holesterola, spreminjali pa smo naboj z dodatkom dicetilfosfata (DCP - negativni naboj) ali dimetil-dioktadecilamonium

bromida (DDAB - pozitiven naboj) ter v nekaterih primerih liposome stabilizirali z PEG. Z metodo EPR smo spremljali kako posamezne komponente vplivajo na fluidnost membrane liposomov. Liposome smo označili s spinskim označevalcem metilnim estrom palmitinske kisline MeFASL(10,3) in iz oblike EPR spektrov z ustrezno računalniško obdelavo določili število in lastnosti različnih vrst domen v membrani. Ugotovili smo, da naboj in sterična stabilizacija s PEG ne vplivata bistveno na fluidnost membrane, pač pa se domenska struktura in fluidnost membrane močno spreminjata s koncentracijo holesterola. Pri koncentraciji holesterola večji od 50 mol% (N15) pride do izrazite spremembe v domenski strukturi, kar močno vpliva tudi na interakcijo liposomov s celicami. (BBA 2008). Za te liposome smo razvili tudi metodo za določitev micelarne koncentracije v liposomski formulaciji (J.Liposome reserach 2010) in ugotovili, da se s povečanjem koncentracije holesterola v liposomih delež micel manjša.

2.2. Interakcija OPP liposomov z različno koncentracijo holesterola s celicami.

Ker ostali faktorji ne vplivajo bistveno na fluidnost membrane smo se skoncentrirali predvsem na proučevanje OPP liposomov z različno koncentracijo holesterola. V te liposome smo vgradili spinski označevalec ASL (spinsko označen tempoholin), ki zaradi naboja ne prehaja skozi membrane in inkubirali MT3 in MCF7 celice z OPP liposomi z različno koncentracijo holesterola. Merili smo kinetiko redukcije spinskega označevalca do katere pride, če liposomi v stiku s celico postanejo propustni in ASL preide v notranjost celice, kjer se zaradi okso-redoksi sistemov v celici reducira v obliko, ki jo z EPR ne vidimo. Ugotovili smo, da je interakcija liposomov s celicami močno odvisna od koncentracije holesterola. Liposomi z večjim deležem neurejenih domen se zlivajo s MT-3 celicami (pri koncentraciji holesterola pod 50 mol%) (N5 liposomi). Pri večji koncentraciji holesterola, ko te domene izginejo pa se liposomi bodisi adsorbirajo na površino celice ali prehajajo v notranjost z endocitozo kjer pa ostanejo v času meritve nepoškodovani (N15 liposomi). S fluorescenčno mikroskopijo z fluoroforjem vgrajenim v membrano liposomov smo potrdili, da ti liposomi ostanejo pretežno izven celice, medtem ko liposomi z nižjo koncentracijo holesterola preidejo v celice, kjer je njihova okolica drugačna kot v liposomih (spekter fluoroforja je drugačen), kar pomeni, da so prešli iz liposomske membrane v drugačno okolico. Meritve citotoksičnosti pa so pokazale, da je citotoksičnost za N5 večja kot za N15.

Zanimiva je primerjava med MT3 in MCF7 celicami. Pri sobni temperaturi je kinetika redukcije za obe vrsti celic v meji merskih napak, v fizioloških pogojih pa je sproščanje ASL iz liposomov z manjšo koncentracijo holesterola hitrejše za MT3 celice (brez receptorjev), ki so bolj občutljive na OPP kot za MCF7 celice. Rezultate z MT3 celicami smo objavili v BBA (2008), rezultati z MCF7 pa so zbrani v preglednem članku, ki je pripravljen za objavo in je v priponki.

Na osnovi vseh zbranih rezultatov ocenjujemo, da je optimalna sestava liposomov PC:CH: DCP v razmerju 10:5:2, to so N5 liposomi (PC = fosfatidil holin, CH = holesterol, DCP = dicetilfosfat), pri katerih je citotoksičnost največja, hemolitična aktivnost pa enaka kot pri liposomih z večjo koncentracijo holesterola.

2.3. Transport OPP iz liposomske membrane v modelne in celične membrane

Za te raziskave smo pripravili OPP liposome, kjer je bilo 20 % OPP zamenjanega s spinsko označenim OPP (5P). To je imelo za posledico da se je spekter EPR liposomov močno razširil zaradi izmenjalne interakcije med molekulami 5P. Po dodatku modelnih membran ali celic je prišlo do hitrega prehoda 5P v druge membrane, izmenjalne interakcije ni bilo več in oblika spektra se je spremenila. V cca 2 min (to je v toku priprave vzorca za meritve) se je 5P enakomerno porazdelil med vse membrane in namesto razširjenega spektra smo dobili običajen membranski spekter, ki se v naslednjih treh urah ni več bistveno spremenil. Rezultati kinetike redukcije z askorbatom na modelnih membranah in v celicah pa kažejo, da je transport 5P iz zunanje membrane v notranje plasti membrane počasen, kar ni presenetljivo glede na polarno glavo OPP. (predavanje na konferenci v Krakovu 2010, rokopis članka)

3. Interakcija liposomov različne sestave z endotelijskimi celicami kot modelom za

možgansko bariero – transcitoza

Za učinkovitost zdravljenja v terapiji tumorjev je odločilen prehod učinkovin iz krvnožilnega sistema v celice. To je še zlasti problematično pri prehodu skozi možgansko bariero, dinamično pregrado med krvnožilnim sistemom in možgani, ki jo tvorijo endotelijske celice možganskih kapilar in ščitijo možgane pred škodljivimi vplivi iz okolice in regulirajo njihov metabolizem. Problem pa je, da te celice tudi preprečujejo vnos zdravilnih učinkovin v možgane. Domneva se, da bi s primerno izbiro liposomov v katere bi vgradili zdravilno učinkovino, lahko izboljšali vnos učinkovine v možgane in s tem izboljšali učinkovitost zdravljenja. Zato smo pripravili liposome različne sestave in proučevali kako njihove lastnosti vplivajo na prehod snovi v in skozi bariero, ki jo tvorijo endotelijske celice (MDCK), ki smo jih izbrali kot model za možgansko bariero.

3.1. Transport v liposome vgrajenih snovi v in skozi endotelijske celice

Proučevali smo kako domenska struktura liposomskih membran in fluidnost membrane vplivata na prehod v liposome vgrajenih snovi v in skozi endotelijske celice (MDCK). Iz serije 25 liposomskih pripravkov različne sestave smo izbrali 11 pripravkov z različno transcitozo.

Liposomi so bili iz fosfatidilholina, holesterola in dicetil fosfata (DCP), kod pomožne lipide pa smo uporabljali fosfolipid DOPE (dioleil posfatidil etanolamin) z nenasičenimi vezmi in alkilfosfolipid (OPP). Spreminjali smo koncentracijo holesterola, DOPE in OPP. Ugotovili smo, da je v prisotnosti OPP, ki tudi najbolj poveča fluidnost v zgornjem delu membrane, transcitoza največja (L4 liposomi), in se povečuje z večanjem koncentracije OPP. Najmanjšo transcitozo pa dobimo pri liposomih enake sestave toda brez OPP in z 10 % več holesterola (L3 liposomi), kjer je bila tudi fluidnost v zgornjem delu membrane manjša. (J. Pharm. Sci 2010).

Ugotovili smo tudi korelacijo med stabilnostjo liposomov in transcitozo. Pri liposomih, ki v celici hitro odpustijo vgrajeno snov je transcitoza boljša. Izkazalo pa se je tudi da imajo to lastnost liposomi z večjo vsebnostjo OPP. OPP vpliva na neurejene domene v membrani tako, da je olajšano odpuščanje v liposome vgrajenih snovi. O rezultatih smo poročali na konferenci SloNano 2009 in pripravili rokopis članka.

3.2. Interakcija liposomov z endotelijskimi celicami.

Glede na korelacijo med fluidnostjo membrane in transcitozo in na rezultate predhodnih raziskav, (BBA 2008) smo postavili hipotezo, da je razlika v transcitozi posledica različne interakcije med liposomi in endotelijskimi celicami. Da bi preverili to hipotezo smo pripravili liposome z največjo in najmanjšo transcitozo (L4 in L3) z vgrajenim spinsko označenim tempoholinom (ASL). Merili smo kinetiko redukcije spinskega označevalca do katere pride, če liposomi v stiku s celico postanejo propustni in ASL preide v notranjost celice, kjer se zaradi oksi-redoksi sistemov v celici reducira v obliko, ki jo z EPR ne vidimo. V obeh primerih je bila kinetika redukcije ista iz česar smo sklepali, da spremembe v fluidnosti niso dovolj velike, da bi vplivale na interakcijo liposomov s celicami. S tem smo ovrgli postavljeno hipotezo.

4. Ocena stopnje realizacije zastavljenih raziskovalnih ciljev⁴

Hipotezo, da primerna lipidna sestava liposomov z OPP omogoča fuzijo liposomskih in celičnih membran smo potrdili ter rezultate objavili v BBA (2008) in preglednem članku, ki je v pripravi (priloga). Prav tako smo potrdili, da OPP vpliva na fluidnost celične membrane, vendar je učinek na liposomih, ki nimajo aktivnega transporta OPP v notranjost celice večji, kot pri celicah, pri katerih transporterski encimi prispevajo k temu, da OPP hitro preide v citoplazmo.

Poleg tega smo pokazali razliko med celicami z estrogenimi (EG) receptorji (MCF7) in brez EG receptorjev (MT-3) v interakciji micelarne OPP in liposomov iz OPP in s tem prispevali k razumevanju mehanizma delovanja OPP.

Ocenjujemo, da smo zastavljene cilje v glavnem izpolnili in določili, da je optimalna formulacija liposomov N5 s sestavo PC:CH: DCP v razmerju 10:5:2. Nismo pa uspeli izdelati nove vrste liposomov, kubosomov in proučiti njihove interakcije s celicami. Namesto tega smo bolj temeljito proučili vpliv sestave liposomov in njihove domenske

strukture na interakcijo z endotelijskimi celicami (MDCK), ki smo jih izbrali kot model za možgansko bariero. Ugotovili smo, da je prisotnost OPP v liposomih izredno pomembna za učinkovit prehod skozi bariero iz endotelijskih celic (transcitozo), ki je večja pri višji koncentraciji OPP in skušali pojasniti mehanizem z večjo propustnostjo liposomov.

Delo poteka v sodelovanju z Max Delbruck centrom za molekularno medicino, Berlin, Nemčija.

5. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine⁵

Ni bilo sprememb programa raziskovanja.

6. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine⁶

Znanstveni rezultat			
1.	Naslov	SLO	Interakcija liposomov iz alkilfosfolipidov z MT-3 celicami tumorja dojke je kritično odvisna od koncentracije holesterola.
		ANG	Interaction of alkylphospholipid liposomes with MT-3 breast-cancer cells depends critically on cholesterol concentration.
	Opis	SLO	Alkilfosfolipidi (APL) so citostatiki za zdravljenje tumorja dojke. Ugotovili smo, da je interakcija APL liposomov s celicami odvisna od domenske strukture membran, ki pa jo pogojuje koncentracija holesterola. Liposomi z manj kot 50 mol% holesterola se zlivajo z MT-3 celicami, liposomi z več holesterola, kjer delež neurejenih domen pade pod 10%, pa ne. Postavili smo hipotezo, da je za zlitje potrebna prisotnost zelo fluidnih domen. Rezultati kažejo, da micle niso edini razlog za citotoksičnost APL liposomov, temveč k citotoksičnosti prispevajo tudi liposomi z manj kot 50 mol% holesterola
		ANG	Alkylphospholipids (APL) are promising anticancer drugs. We have found that interaction of APL liposomes with cells depends on membrane domain structure, defined by liposome cholesterol content. Liposomes with less than 50 mol% cholesterol fuse with cells, while those with more cholesterol, where the proportion of disordered domains decreases below 10%, don't. We proposed that fluid domains are responsible for fusion. Results suggest that micelles are not the only reason for cytotoxic effect of APL formulation, but liposomes with less than 50 % cholesterol also contribute to cytotoxicity.
	Objavljeno v		T. Koklič, R. Zeizig, M. Sentjunc: Biochim. Biophys. Acta, 1778, 2682-2689 (2008), JCR IF (2007): 3.64
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
COBISS.SI-ID		22164007	
2.	Naslov	SLO	Vpliv membranskih lastnosti liposomov na vnos in transcitozo koloidnih nanodelcev v in skozi endotelijske celice, model za možgansko bariero.
		ANG	Impact of Membrane Properties on Uptake and Transcytosis of Colloidal Nanocarriers across an Epithelial Cell Barrier Model
	Opis	SLO	Pri zdravljenju možganskih tumorjev je resen problem prehod učinkovin skozi možgansko bariero. Možna rešitev je vgrajevanje učinkovin v liposome primerne sestave. V ta namen smo za liposome z različno sestavo proučevali kako fluidnost membrane vpliva na prehod v liposome vgrajenih snovi v in skozi endotelijske celice (MDCK), ki naj bi predstavljale model za možgansko bariero. Ugotovili smo, da je transcitoza največja za liposome iz DPPC, holesterola, DOPC in v prisotnosti alkilfosfolipida (OPP), ki tudi najbolj poveča fluidnost v zgornjem delu membrane.
		ANG	The overcome of endothelial barrier is a serious challenge in the treatment of brain tumors. Possible solution is delivery of drugs in liposome carriers of adequate composition. For this purpose liposomes of different composition were prepared and influence of membrane fluidity on the uptake and transcytosis by endothelial (MDCK) cells, a model for blood brain barrier, investigated. The most pronounced transcytosis was obtained for liposomes composed of DPPC, cholesterol, DOPC and 20 mol% alkylphospholipid that

			experienced the highest membrane fluidity among the liposomes investigated.
	Objavljeno v		A. Orthmann, R. Zeisig; T. Koklič, M. Šentjerc; B. Wiesner; M. Lemm; and I. Fichtner, J. Pharm. Sci. 96, 2423-2433, (2010)
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
	COBISS.SI-ID		23245095
3.	Naslov	SLO	Vpliv metod odstranjevanja celic iz podlage na preživetje, kinetiko redukcije nitroksidov in membransko heterogenost V-79 celic.
		ANG	Effects of different detachment procedures on viability, nitroxide reduction kinetics, and membrane heterogeneity of V-79 cells.
	Opis	SLO	Za številne raziskave na celičnih kulturah in interakcij zdravilnih učinkovin s celicami je potrebno celice odstraniti iz dna posode v kateri jih gojimo. V ta namen so v rabi različne procedure, ki pa lahko poškodujejo celice in s tem vplivajo na zanesljivost rezultatov. V naši raziskavi smo ugotovili, da med preizkuševanimi metodami (strganje, odstranjevanje s citratnim pufrom ali tripsinom) s tripsinizacijo najmanj vplivamo na preživetje in metabolizem celic, na fluidnost celičnih membran pa nobena izmed preizkušenih metod ne vpliva bistveno
		ANG	For many investigations on cells and interactions of biologically active substances with cells detachment from the bottom of the culture dishes is necessary. However, detachment can cause severe damage to cells and influence the reliability of the results. According to our results, among the detachment procedures used (scraping cells, removal by citrate buffer or trypsin) the most suitable seems to be trypsinisation, which influences cell viability and metabolism of cells the least, while neither of the methods influence membrane fluidity significantly.
	Objavljeno v		BATISTA, Urška, GARVAS, Maja, NEMEC, Marjanca, SCHARA, Milan Valter, VERANIČ, Peter, KOKLIČ, Tilen, Cell Biol Int, 2010, vol. 34, issue 6, 663-668
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
	COBISS.SI-ID		26810841
4.	Naslov	SLO	Določitev deleža micel v liposomskih formulacijah iz OPP z metodo elektronske paramagnetne resonance.
		ANG	Determination of the amount of micelles in alkylphospholipid liposome formulations with electron paramagnetic resonance method.
	Opis	SLO	V mnogih liposomskih formulacijah se lipidi združujejo, ne samo v eno – ali več slojne mehurčke, temveč tudi v micelle. Delež micel je odvisen od sestave liposomov. Razvili smo postopek s katerim lahko z metodo EPR v liposomskih formulacijah določimo delež micel in jo uporabili na OPP liposomih z različno vsebnostjo holesterola. V tem primeru je določitev deleža micel v formulaciji pomembna, ker so OPP liposomi potencialno uporabni v terapiji tumorjev, v micelarni obliki pa povzročajo številne stranske učinke, kot npr. hemolizo.
		ANG	In many liposome formulations lipids forms not only unilamellar or multilamellar vesicles but also micelles. Amount of micelles depends strongly on liposome composition. We have developed the procedure by which it is possible to determine the amount of micelles in liposome formulation by EPR. We have applied the procedure to OPP liposomes with different amount of cholesterol. For liposome formulation of OPP this is of special importance since they can be potentially used in cancer therapy, but in micellar form they produce serious side effects, like hemolysis.
	Objavljeno v		KOKLIČ, Tilen, ŠENTJURC, Marjeta, ZEISIG, Reiner. Journal of liposome research, 2011, vol. 21, issue 1, str. 1-8
	Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek
	COBISS.SI-ID		23571239
5.	Naslov	SLO	
		ANG	
	Opis	SLO	
		ANG	
	Objavljeno v		
	Tipologija		

COBISS.SI-ID	
--------------	--

7. Najpomembnejši družbeno-ekonomsko relevantni rezultati projektne skupine⁶

Družbeno-ekonomsko relevantni rezultat			
1.	Naslov	SLO	Membranske lastnosti liposomskih nosilcev za prenos hidrofilnih markerjev skozi endotelijsko bariero.
		ANG	Cellular uptake and delivery of a hydrophylic marker across endothelial barrier depends on membrane properties of liposomes
	Opis	SLO	Pri zdravljenju možganskih tumorjev je resen problem prehod učinkovin skozi možgansko bariero. Možna rešitev je vgrajevanje učinkovin v liposome primerne sestave. V ta namen smo za različne vrste liposomov proučevali kako fluidnost membrane vpliva na prehod v liposome vgrajenih snovi v in skozi endotelijske celice (MDCK), ki naj bi predstavljale model za možgansko bariero. Ugotovili smo, da je transcitoza največja v liposomih iz DPPC, holesterola, DOPC in v prisotnosti alkilfosfolipida (OPP), ki tudi najbolj poveča fluidnost v zgornjem delu membrane
		ANG	The overcome of endothelial barrier is a serious challenge in the treatment of brain tumors. Possible solution is delivery of drugs in liposomal carriers of adequate composition. For this purpose liposomes of different composition were prepared and influence of membrane fluidity on the uptake and transcytosis by endothelial (MDCK) cells, a model for blood brain barrier, investigated. The most pronounced transcytosis was obtained for liposomes composed of DPPC, cholesterol, DOPC and 20 mol% alkylphospholipid that experienced the highest membrane fluidity among the liposomes investigated
	Šifra		B.03 Referat na mednarodni znanstveni konferenci
	Objavljeno v		T. Koklič, M. Garvas, R. Zeizig, M. Šentjunc: Regional biophysics conference, Linz, februar 2009, Knjiga povzetkov, str. 45
	Tipologija		1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci
COBISS.SI-ID		22514727	
2.	Naslov	SLO	Vpliv metod odstranjevanja celic iz podlage na preživetje, kinetiko redukcije nitroksidov in membransko heterogenost V-79 celic.
		ANG	Effects of different detachment procedures on viability, nitroxide reduction kinetics, and membrane heterogeneity of V-79 cells.
	Opis	SLO	Za številne raziskave na celičnih kulturah in interakcij zdravilnih učinkovin s celicami je potrebno celice odstraniti iz dna posode v kateri jih gojimo. V ta namen so v rabi različne procedure, ki pa lahko poškodujejo celice in s tem vplivajo na zanesljivost rezultatov. V naši raziskavi smo ugotovili, da med preizkuševanimi metodami (strganje, odstranjevanje s citratnim pufrom ali tripsinom) s tripsinizacijo najmanj vplivamo na preživetje in metabolizem celic, na fluidnost celičnih membran pa nobena izmed preizkušenih metod ne vpliva bistveno
		ANG	For many investigations on cells and interactions of biologically active substances with cells detachment from the bottom of the culture dishes is necessary. However, detachment can cause severe damage to cells and influence the reliability of the results. According to our results, among the detachment procedures used (scraping cells, removal by citrate buffer or trypsin) the most suitable seems to be trypsinisation, which influences cell viability and metabolism of cells the least, while neither of the methods influence membrane fluidity significantly.
	Šifra		B.03 Referat na mednarodni znanstveni konferenci
	Objavljeno v		M Garvas, U. Batista, T. Kroflič M. Nemec, M. Schara: Regional biophysics conference 2009 : February 10-14, 2009, Linz, Austria : Abstract book. [S.l.: s.n.], 2009, str. 81.
	Tipologija		1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci
COBISS.SI-ID		22514983	
3.	Naslov	SLO	Interakcija liposomov z endotelijskimi celicami, kot modeli za prenos učinkovin skozi možgansko bariero.
		ANG	Interaction of liposome carriers on epithelial cells as a model of drug

			transport across the blood brain barrier.
	Opis	SLO	Vloga domenske strukture pri transcitozi liposomov skozi možgansko bariero predstavlja novo znanstveno spoznanje pomembno za razumevanje mehanizma transcitoze in s tem za pripravo učinkovitejših nosilcev za prenos zdravil skozi možgansko bariero. Ob tem delu so se izobraževali mladi raziskovalci, in dobili novo praktično znanje, nove informacije in veščine.
		ANG	Role of membrane domain structure in the process of transcytosis across the blood brain barrier (BBB) means a new scientific knowledge which will help in understanding the mechanisms of transcytosis and consequently in the preparation of new better delivery systems for transport of drugs through BBB: In the research young scientists were included, who earned new practical knowledge and experience which will help in their future work.
	Šifra		B.03 Referat na mednarodni znanstveni konferenci
	Objavljeno v		PODLIPEC, Rok, ŠENTJURC, Marjeta, ZEISIG, Reiner, KOKLIČ, Tilen. Interaction of liposome carriers on epithelial cells as a model of drug transport across the blood brain barrier. V: Book of abstracts : SLONANO 2009, 19-21 October 2009, Ljubljana. str. 69.
	Tipologija		1.12 Objavljeni povzetek znanstvenega prispevka na konferenci
	COBISS.SI-ID		23043111
4.	Naslov	SLO	Interakcija spinsko označenih derivatov citostatičnega alkilfosfolipida, perifosina, z modelnimi in celičnimi membranami.
		ANG	Interaction of spin-labeled derivatives of a cytostatic alkylphospholipid, perifosine, with model and cell membranes
	Opis	SLO	Da bi dobili boljši vpogled v mehanizem prehoda OPP v celice smo sintetizirali spinsko označen OPP (5P) in z metodo EPR opazovali kinetiko prehoda prostih 5P in 5P vgrajenih v liposome v modelne in celične membrane. Ugotovili smo, da je prehod 5P iz liposomske membrane v membrane drugih liposomov ali celic izredno hiter, (ravnotežje se vzpostavi v cca nekaj minutah) medtem ko je prehod 5P iz zunanjega v notranje sloje membrane počasen. Zaradi omenjenih lastnosti je 5P lahko tudi dober spinski označevalec za študij celičnih membran.
		ANG	To get better insight into the mechanism of transport of OPP through the cell membrane the spin labeled OPP (5P) was used and the kinetics of transport of free 5P and 5P in liposome formulation into the model and cell membranes was investigated by EPR. We have found that the transport of 5P from liposome membrane into the membrane of other liposomes or cells was fast (equilibrium was reached within few min), while the transport from outer layer to the inner layers of the membrane is a slow process. Therefore we propose 5P as a good spin probe for the study of model and cell membranes.
	Šifra		B.03 Referat na mednarodni znanstveni konferenci
	Objavljeno v		MRVLJAK, Janez, PODLIPEC, Rok, KOKLIČ, Tilen, PEČAR, Slavko, ŠENTJURC, Marjeta. Interaction of spin-labeled derivatives of a cancerostatic alkylphospholipid, perifosine, with model and cell membranes. V: VIIIth International Workshop on EPR(ESR) in Biology and Medicine, October 4-7, 2010, Krakow, Poland. Book of abstracts. 2010, str. 43.
	Tipologija		1.08 Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci
	COBISS.SI-ID		24379431
5.	Naslov	SLO	Pridobitev novih praktičnih in znanstvenih spoznanj
		ANG	New practical and scientific knowledge
	Opis	SLO	Vloga domenske strukture pri fuziji liposomov s celicami predstavlja novo znanstveno spoznanje. Ob tem delu so se izobraževali mladi raziskovalci, in dobili nova praktična znanja, nove informacije in veščine.
		ANG	Role of membrane domain structure in the interaction of liposomes with cell means a new scientific knowledge which will help in understanding of cell membrane interactions. In the study young scientists were included, who earned new practical knowledge and experience which will help in their future work.
	Šifra		F.01 Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin
	Objavljeno v		T. Koklič, R. Zeizig, M. Šentjunc: Biochim. Biophys. Acta, 1778, 2682-2689 (2008)
			1.01 Izvirni znanstveni članek

Tipologija	
COBISS.SI-ID	22164007

8. Drugi pomembni rezultati projektne skupine⁸

Rezultati naših raziskav alkilfosfolipidov (ALP) in njihove interakcije s celicami, kar je predmet projekta, so zbrani v preglednem članku, ki je v pripravi za objavo v knjigi "Breast cancer cells". Na osnovi povzetka, so editorji odločili, da je članek primeren za objavo. V njem povzemamo mehanizem delovanja ALP, in podajamo pregled naših rezultatov. Povzetek članka je v priponki.

9. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine⁹

9.1. Pomen za razvoj znanosti¹⁰

SLO

Rezultati bodo prispevali k:

- razumevanju mehanizmov interakcije alkilfosfolipidov (APL) z celicami
- razvoju APL liposomov za zdravljenje tumorjev s povečano kancerostatično učinkovitostjo in manj neželenih stranskih učinkov
- razumevanju vloge membranske domenske strukture v procesu fuzije realnih in modelnih membran
- boljšemu razumevanju vloge membranske domenske strukture v procesu transcitoze skozi možgansko bariero.
- razvoju liposomov za prenos učinkovin skozi možgansko bariero v možgane
- razvoju novih farmacevtskih formulacij

ANG

Results will contribute to:

- better understanding of mechanisms of interaction of alkylphospholipids (APL) with cells
- a development of APL liposomes for treatment of tumors with enhanced cancerostatic efficiency and less undesirable side effects;
- better understanding of membrane domain structure in the process of fusion of real and model membranes
- better understanding of the role of membrane domain structure in the process of transcytosis
- a development of liposomes for the transport of drug via blood-brain barrier into the brain.
- a development of new drugs and pharmaceutical formulations.

9.2. Pomen za razvoj Slovenije¹¹

SLO

Raziskave so pomembne za farmacevtsko industrijo, ki je ena od pomembnejših vej industrije pri nas.

V sklopu projekta se izobražujejo mladi raziskovalci in doktorji znanosti na različnih področjih ved o življenju. Zaradi svojega širokega znanja in izkušenj bodo lahko prispevali k hitrejši ekonomski rasti v različnih področjih industrije, in še posebej farmacevtske in prehranske industrije.

ANG

This investigation could be important for pharmaceutical industry, which is one of most prosperous fields in our country.

Within this project PhD students and young doctors of science are educated in different fields of life sciences. Therefore they will be able to contribute with their knowledge to faster economic growth in different fields of industry and especially in the pharmaceutical and food industry.

10. Samo za aplikativne projekte!

Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri aplikativnem projektu, katere konkretne rezultate ste dosegli in v kakšni meri so doseženi rezultati uporabljeni

Cilj	
F.01	Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin
	Zastavljen cilj ☐ DA ☐ NE

	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.02	Pridobitev novih znanstvenih spoznanj	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.03	Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.04	Dvig tehnološke ravni	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.05	Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.06	Razvoj novega izdelka	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.07	Izboljšanje obstoječega izdelka	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.08	Razvoj in izdelava prototipa	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.09	Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.10	Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	

F.11	Razvoj nove storitve	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.12	Izboljšanje obstoječe storitve	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.13	Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.14	Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.15	Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.16	Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.17	Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.18	Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.19	Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.20	Ustanovitev novega podjetja ("spin off")	

	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.21	Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.22	Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.23	Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.24	Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.25	Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.26	Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.27	Prispevek k ohranjanju/varovanje naravne in kulturne dediščine	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.28	Priprava/organizacija razstave	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.29	Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	

	Uporaba rezultatov	
F.30	Strokovna ocena stanja	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.31	Razvoj standardov	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.32	Mednarodni patent	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.33	Patent v Sloveniji	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.34	Svetovalna dejavnost	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	
F.35	Drugo	
	Zastavljen cilj	☐ DA ☐ NE
	Rezultat	
	Uporaba rezultatov	

Komentar

--

11. Samo za aplikativne projekte!**Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja**

	Vpliv	Ni vpliva	Majhen vpliv	Srednji vpliv	Velik vpliv	
G.01	Razvoj visoko-šolskega izobraževanja					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	☐	☐	☐	☐	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	☐	☐	☐	☐	
G.01.03.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.02	Gospodarski razvoj					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih izdelkov/storitev na trgu	☐	☐	☐	☐	

G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	☐	☐	☐	☐	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	☐	☐	☐	☐	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	☐	☐	☐	☐	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	☐	☐	☐	☐	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	☐	☐	☐	☐	
G.02.07.	Večji delež izvoza	☐	☐	☐	☐	
G.02.08.	Povečanje dobička	☐	☐	☐	☐	
G.02.09.	Nova delovna mesta	☐	☐	☐	☐	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	☐	☐	☐	☐	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	☐	☐	☐	☐	
G.02.12.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.03	Tehnološki razvoj					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	☐	☐	☐	☐	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	☐	☐	☐	☐	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	☐	☐	☐	☐	
G.03.04.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.04	Družbeni razvoj					
G.04.01	Dvig kvalitete življenja	☐	☐	☐	☐	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	☐	☐	☐	☐	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	☐	☐	☐	☐	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	☐	☐	☐	☐	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	☐	☐	☐	☐	
G.04.06.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.05.	Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete	☐	☐	☐	☐	
G.06.	Varovanje okolja in trajnostni razvoj	☐	☐	☐	☐	
G.07	Razvoj družbene infrastrukture					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura	☐	☐	☐	☐	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	☐	☐	☐	☐	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	☐	☐	☐	☐	
G.07.04.	Drugo:	☐	☐	☐	☐	
G.08.	Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva	☐	☐	☐	☐	
G.09.	Drugo: 	☐	☐	☐	☐	

Komentar

12. Pomen raziskovanja za sofinancerje, navedene v 2. točki [12](#)

1.	Sofinancer		
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:		EUR
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:		%
	Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja		Šifra
	1.		
	2.		
	3.		
	4.		
	5.		
	Komentar		
Ocena			
2.	Sofinancer		
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:		EUR
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:		%
	Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja		Šifra
	1.		
	2.		
	3.		
	4.		
	5.		
	Komentar		
Ocena			
3.	Sofinancer		
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:		EUR
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:		%
	Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja		Šifra
	1.		
	2.		

	3.		
	4.		
	5.		
Komentar			
Ocena			

C. IZJAVE

Podpisani izjavljam/o, da:

- so vsi podatki, ki jih navajamo v poročilu, resnični in točni
- se strinjamo z obdelavo podatkov v skladu z zakonodajo o varstvu osebnih podatkov za potrebe ocenjevanja, za objavo 6., 7. in 8. točke na spletni strani <http://sicris.izum.si/> ter obdelavo teh podatkov za evidence ARRS
- so vsi podatki v obrazcu v elektronski obliki identični podatkom v obrazcu v pisni obliki
- so z vsebino zaključnega poročila seznanjeni in se strinjajo vsi soizvajalci projekta

Podpisi:

Marjeta Šentjunc	in	
podpis vodje raziskovalnega projekta		zastopnik oz. pooblaščen oseba RO

Kraj in datum:

Ljubljana

21.4.2011

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2011-1/155

¹ Zaradi spremembe klasifikacije družbeno ekonomskih ciljev je potrebno v poročilu opredeliti družbeno ekonomski cilj po novi klasifikaciji. [Nazaj](#)

² Samo za aplikativne projekte. [Nazaj](#)

³ Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja ter rezultate in učinke raziskovalnega projekta. Največ 18.000 znakov vključno s presledki (približno tri strani, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

⁴ Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

⁵ V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta (obrazložitev). V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikosti pisave 11). [Nazaj](#)

⁶ Navedite največ pet najpomembnejših znanstvenih rezultatov projektne skupine, ki so nastali v času trajanja projekta v okviru raziskovalnega projekta, ki je predmet poročanja. Za vsak rezultat navedite naslov v slovenskem in angleškem jeziku (največ 150 znakov vključno s presledki), rezultat opišite (največ 600 znakov vključno s presledki) v slovenskem in angleškem jeziku, navedite, kje je objavljen (največ 500 znakov vključno s presledki), izberite ustrezno šifro tipa objave po Tipologiji dokumentov/del za vodenje bibliografij v sistemu COBISS ter napišite ustrezno COBISS.SI-ID številko bibliografske enote.

Navedeni rezultati bodo objavljeni na spletni strani <http://sicris.izum.si/>.

PRIMER (v slovenskem jeziku):

Naslov: Regulacija delovanja beta-2 integrinskih receptorjev s katepsinom X;

Opis: Cisteinske proteaze imajo pomembno vlogo pri nastanku in napredovanju raka. Zadnje študije kažejo njihovo povezanost s procesi celičnega signaliziranja in imunskega odziva. V tem znanstvenem članku smo prvi dokazali... (največ 600 znakov vključno s presledki)

Objavljeno v: OBERMAJER, N., PREMŽL, A., ZAVAŠNIK-BERGANT, T., TURK, B., KOS, J.. Carboxypeptidase cathepsin X mediates $\beta 2$ - integrin dependent adhesion of differentiated U-937 cells. Exp. Cell Res., 2006, 312, 2515-2527, JCR IF (2005): 4.148

Tipologija: 1.01 - Izvirni znanstveni članek

COBISS.SI-ID: 1920113 [Nazaj](#)

⁷ Navedite največ pet najpomembnejših družbeno-ekonomsko relevantnih rezultatov projektne skupine, ki so nastali v času trajanja projekta v okviru raziskovalnega projekta, ki je predmet poročanja. Za vsak rezultat navedite naslov (največ 150 znakov vključno s presledki), rezultat opišite (največ 600 znakov vključno s presledki), izberite ustrezen rezultat, ki je v Šifrantu raziskovalnih rezultatov in učinkov (Glej: <http://www.arrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/sif-razisk-rezult.asp>), navedite, kje je rezultat objavljen (največ 500 znakov vključno s presledki), izberite ustrezno šifro tipa objave po Tipologiji dokumentov/del za vodenje bibliografij v sistemu COBISS ter napišite ustrezno COBISS.SI-ID številko bibliografske enote.

Navedeni rezultati bodo objavljeni na spletni strani <http://sicris.izum.si/>. [Nazaj](#)

⁸ Navedite rezultate raziskovalnega projekta v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 6 in 7 (npr. ker se ga v sistemu COBISS ne vodi). Največ 2.000 znakov vključno s presledki. [Nazaj](#)

⁹ Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja. [Nazaj](#)

¹⁰ Največ 4.000 znakov vključno s presledki [Nazaj](#)

¹¹ Največ 4.000 znakov vključno s presledki [Nazaj](#)

¹² Rubrike izpolnite/prepišite skladno z obrazcem "Izjava sofinancerja" (<http://www.arrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>), ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisan obrazec "Izjava sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2011-1 v1.01

53-AC-EF-A5-C4-A4-DE-B3-B7-30-13-71-7A-F4-D3-A3-38-23-6E-95

Interaction of OPP alkylphospholipid formulations with breast cancer cells

T. Koklic^{1,2}, R. Podlipec^{1,2}, J. Mravljak³, M. Sentjurc¹, R. Zeisig⁴

¹Jozef Stefan Institute, Ljubljana, Slovenia

²Center of Excellence NAMASTE, Ljubljana, Slovenia

³Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

⁴Max-Delbrück-Centre for Molecular Medicine, Berlin-Buch, Germany

Alkylphospholipids (APL) have shown promising results in several clinical studies and among them perifosine (octadecyl(1,1-di-methyl-4-piperidinium-4-yl)phosphate OPP) is promising for breast cancer therapy. Antitumor effect was found only in estrogen receptor negative (ER-) tumors in vivo, while no effect was found in estrogen receptor positive tumors (ER+). It is believed that APL do not target DNA, but they insert in the plasma membrane and ultimately lead to cell death.

To achieve better therapeutic effects of APL in vivo, with less side effects, different liposomal formulations of APL showed diminished hemolytic activity as compared to micellar OPP. On the other hand, in most cases, cytotoxic activity of liposomes was also lower than free APL.

Both cell types, ER+ and ER-, showed similar dependance of liposome cell interaction on the amount of cholesterol, while experiments with nitroxide-labeled OPP (5SL-OPP) suggest that when 5SL-OPP is applied in liposomal formulation the exchange of 5SL-OPP between liposomes and cellular membranes is fast even when liposomes are not interacting with cells, as in the case of OPP liposomes with high amount of cholesterol. However, translocation of 5SL-OPP across the plasma membrane seems to be faster in the case of OPP resistant, ER+ cells - MCF7 then in the case of ER- cells - MT3 at 37°C.