

Streszczenie pracy doktorskiej

Badanie właściwości wybranych nanomateriałów pod kątem ich zastosowania w terapii fototermicznej

mgr inż. Dominika Kulpińska

Katedra Biotechnologii Medycznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Warszawska

Celem niniejszej pracy było określenie skuteczności oraz selektywności procedury terapii fototermicznej (PTT) prowadzonej *in vitro* na wybranych ludzkich liniach komórkowych. PTT jest nową metodą, która może znaleźć zastosowanie w leczeniu nowotworów. Polega ona na wykorzystaniu promieniowania elektromagnetycznego do wywołania hipertermii lub ablacji komórek nowotworowych, w których wnętrzu lub pobliżu znajduje się substancja zdolna do konwersji energii promieniowania elektromagnetycznego na energię cieplną. W procedurze PTT zastosowano jako czynnik fotoaktywny dwa rodzaje nanomateriałów: puste nanopowłoki złota (HGNs) oraz MXeny Ti_2C . Powierzchnia nanomateriałów była modyfikowana, co pozwoliło na zbadanie wpływu rodzaju modyfikacji powierzchni na efektywność i selektywność procedury PTT.

Wykorzystywane w badaniach nanomateriały były zsyntetyzowane, ich powierzchnia została zmodyfikowana za pomocą wybranych ligandów oraz zostały one scharakteryzowane pod względem fizyko-chemicznym na Politechnice Warszawskiej. Zbadano również ich zdolność konwersji energii promieniowania elektromagnetycznego na energię cieplną. Otrzymane puste nanopowłoki złota miały strukturę typu rdzeń-powłoka. Charakteryzowały się one sferycznym kształtem, a ich średnica wynosiła około 40 nm. Puste nanopowłoki złota zmodyfikowano polimerem (PEG zakończonym grupą karboksylową lub PEG zakończonym grupą aminową) lub aptamerem (skierowanym przeciwko nukleolinie: AS1411 i przeciwko mucynie 1: anty-MUC1). Drugim zastosowanym w badaniach nanomateriałem były MXeny Ti_2C o charakterystycznej płaskiej, dwuwymiarowej strukturze (tzw. nanopłatków) o wymiarach bocznych nieprzekraczających 3 μm i grubości pozostającej w zakresie nanometrów (ok. 23 nm). Powierzchnię MXenów zmodyfikowano za pomocą PEG. Wszystkie badane nanomateriały wykazywały się dobrą stabilnością w roztworze wodnym i właściwościami fizykochemicznymi, a także zdolnością konwersji energii promieniowania elektromagnetycznego na energię cieplną.

W kolejnym etapie przeprowadzono badania na hodowlach komórkowych. W PTT zastosowano laser emitujący promieniowanie z zakresu podczerwieni o $\lambda = 808$ nm. Warto

wykorzystano mikrosystemy typu *lab-on-a-chip*. Zaletą mikrosystemów jest to, że umożliwiają one przeprowadzenie wszystkich etapów badania efektywności procedury PTT (naświetlanie, określenie żywotności komórek i obserwacje mikroskopowe) w czasie wielodniowej hodowli. Dodatkowo, możliwe było uzyskanie jednorodnej hodowli sferoidów. Sferoidy uzyskano z komórek piersi (MCF-10A i MCF-7) oraz płuc (MRC-5 i A549). Znakowany fluorescencyjnie aptamer anty-MUC1 był pobierany w większej ilości przez komórki nowotworowe niż prawidłowe. Ponadto roztwory HGNS-anty-MUC1 o stężeniu 100 μM nie były cytotoksyczne względem sferoidów. Procedura PTT prowadzona na sferoidach charakteryzowała się nieco niższą efektywnością w porównaniu do procedury PTT prowadzonej na monowarstwie komórek. Jest to związane z ograniczoną możliwością wnikania nanomateriału do wnętrza sferoidu, ze względu na ścisłe przyleganie do siebie komórek. Z drugiej strony sferoidy lepiej odwzorowują środowisko guza niż monowarstwa komórek. Procedura PTT na sferoidach była skuteczna i selektywna. Przeprowadzone badania były pierwszymi opublikowanymi badaniami mającymi na celu określenie skuteczności i selektywności PTT, w których zastosowano mikrosystemy przepływowe typu *lab-on-a-chip*. Ponadto, po raz pierwszy wykorzystano HGNS jako czynnik fotoaktywny w procedurze PTT prowadzonej na wielokomórkowych sferoidach.

Badania, w których zastosowano MXeny Ti_2C z powierzchnią modyfikowaną PEG przeprowadzono na hodowli komórkowej 2D z wykorzystaniem linii komórkowych skóry i piersi. Wyniki tych badań opublikowane zostały w artykule 2. Roztwory MXenów były nietoksyczne wobec komórek zarówno prawidłowych, jak i nowotworowych w badanym zakresie stężeń (1 - 62,5 $\mu\text{g ml}^{-1}$). W wyniku procedury PTT na hodowli komórek skóry zaobserwowano wysoką selektywność i skuteczność w całym badanym zakresie stężeń. Natomiast w przypadku komórek linii piersi najlepszy efekt osiągnięto, gdy podano nanomateriał o stężeniu 37,5 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Opisane badania były pierwszymi, w których wykorzystano MXeny Ti_2C w terapii fototermicznej.

Wyniki badań opublikowane w ramach niniejszej pracy, mogą przyczynić się do lepszego poznania i zrozumienia właściwości wybranych nanomateriałów pod kątem ich zastosowania w terapii fototermicznej, a tym samym do opracowania nowych, bezpiecznych i skutecznych metod walki z nowotworami.

Słowa kluczowe: terapia fototermiczna; nanocząstki złota; MXeny; aptamery;

Dominiko Kulpivska
18.03.2022r.