

Wioletta Jakubczak
Doktorantka
Katedra Chemii Analitycznej
Wydział Chemiczny Politechniki Warszawskiej

Warszawa, 12.09.2019

STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

pt. „Przemiany cytotoksycznych kompleksów złota i platyny i ich wpływ na komórkową homeostazę jonów metali, badane za pomocą spektrometrii mas”

Promotor
dr inż. hab. Katarzyna Pawlak, prof. PW

W niniejszej rozprawie doktorskiej pt. „Przemiany cytotoksycznych kompleksów złota i platyny i ich wpływ na komórkową homeostazę jonów metali, badane za pomocą spektrometrii mas” zbadano wpływ kompleksu złota (I) – auranofiny - na zmiany zawartości jonów bio-niezbędnych metali w odniesieniu do cisplatyny - dobrze poznanego cytostatyku. Badania przeprowadzono z użyciem linii komórek nowotworowych (A549) i prawidłowych płuc (MRC-5). Badania realizowano w ramach projektu pt. „Opracowanie metod badania zaburzeń równowagi jonomicznej i ich genezy w komórkach rakowych poddawanych działaniu cytostatyków”, o numerze 2013/09/B/ST4/00961 finansowanego przez NCN, realizowanego w Katedrze Chemii Analitycznej pod kierownictwem prof. PW dr hab. inż. Katarzyny Pawlak.

W części literaturowej niniejszej rozprawy omówiono różnice w metabolizmie i składzie cytozolu pomiędzy komórkami prawidłowymi, a nowotworowymi. Dodatkowo przeanalizowano rodzaje śmierci komórkowej i ich podstawowe mechanizmy. Opisano klasy chemioterapeutyków stosowanych w leczeniu chorób nowotworowych, w tym kompleksów metali jako cytostatyków. Na podstawie opublikowanych już prac przedstawiono zaburzenia homeostazy jonów metali w komórkach nowotworowych i prawidłowych. Opisano także podstawowe techniki instrumentalne stosowane do oznaczania jonów i związków metali.

W ramach realizacji pracy:

- I. dokonano oznaczeń jonów metali w zebranych komórkach za pomocą spektrometru mas z jonizacją w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-MS), co wymagało:

- opracowania metody kolekcjonowania i frakcjonowania komórek poddanych działaniu cytotoksycznych kompleksów metali;
- zaprojektowania chemicznie inertnego, przepływowego układu dozowania małych objętości próbek do oznaczania całkowitej zawartości metali;
- opracowania metody normalizacji wyznaczonych całkowitych zawartości metali względem gęstości komórkowej;
 - i pozwoliło na zbadanie:
 - wpływu cytostatyków na homeostazę jonów metali w badanych komórkach;
 - stopnia powiązania żywotności komórek z homeostazą jonów metali w badanych komórkach.

II. śledzenia zmiany formy cytostatyków w środowisku cytozolu, co wymagało:

- zastosowania chromatografii wykluczania (SEC) w połączeniu z ICP-MS w celu określenia zmian wielkości powstałych metabolitów i wskazania potencjalnych bioligandów wykazujących do nich powinowactwo;
- wykonania kalibracji kolumny SEC z użyciem kompleksów cisplatyny i auranofiny, ich produktów hydrolizy oraz ich adduktów z białkami;
- zastosowania elektroforezy kapilarnej (CE) i kapilarnej chromatografii cieczowej w odwróconym układzie faz (μ RPLC) połączonych z ICP-MS w celu dalszego scharakteryzowania metabolitów (ze względu na zmianę wielkości i ładunku związku) oraz w celu otrzymania map peptydowych znakowanych złotem i platyną. Otrzymane czasy migracji i retencji związków złota i platyny posłużyły do określania ich tożsamości za pomocą cząsteczkowej spektrometrii mas.

Słowa kluczowe: A549, MRC-5, cytostatyki, auranofina, cisplatyna, ICP-MS