

**Streszczenie rozprawy doktorskiej**  
**pt. „Badania nanomateriałów polimerowych jako nowych nośników do**  
**podawania leków w terapii fotodynamicznej z wykorzystaniem**  
**mikrosystemów typu Lab-on-a-chip”**

W rozprawie doktorskiej pt. „Badania nanomateriałów polimerowych jako nowych nośników do podawania leków w terapii fotodynamicznej z wykorzystaniem mikrosystemów typu Lab-on-a-chip” przedstawiono analizę właściwości biologicznych wybranych fotouczulaczy w formie wolnej i enkapsulowanej. Nanonośniki werteporfiryny, tetrafenyloporfiryny, pochodnych ftalocyjanin cynku oraz cyjaniny IR-768 i daunorubicyny to związki autorskie, które zostały zaprojektowane, zsyntetyzowane oraz zanalizowane pod względem fotochemicznym w Zakładzie Technologii Organicznej i Farmaceutycznej Politechniki Wrocławskiej przez zespół prof. dr hab. inż. Kazimierzy Anny Wilk. W ramach niniejszej pracy określono ich potencjał biologiczny w aspekcie toksyczności, wewnątrzkomórkowej lokalizacji, wychwytu komórkowego, właściwości prooksydacyjnych, mechanizmu działania oraz z zastosowaniem innowacyjnych, wielofunkcyjnych systemów mikroprzepływowych Lab-on-a-chip.

W części literaturowej rozprawy przedstawiono zagadnienia dotyczące podstaw i mechanizmu terapii fotodynamicznej (PDT), stosowanych fotouczulaczy a także czynników wpływających na jej skuteczność. Następnie szeroko opisano obszary zastosowania nanotechnologii w PDT jako strategii mającej na celu m.in. poprawę selektywności, biodostępności czy parametrów farmakokinetycznych fotouczulaczy i celowanego ich dostarczenia do miejsca działania. Ponadto, opisano wykorzystanie terapii skojarzonej jako podejścia kombinowanego, umożliwiającego wzmocnienie efektów terapeutycznych PDT. Przedstawiono również szczegółowo podstawy i korzyści oferowane przez technologię Lab-on-a-chip w aspekcie biologicznym. Zaprezentowano przegląd miniaturowych urządzeń do oceny skuteczności terapii fotodynamicznej i skojarzonej.

Część doświadczalna została podzielona na cztery główne rozdziały, w których opisywano odpowiedź różnych linii komórkowych na kolejne fotouczulacze. W pierwszym z nich opisano właściwości werteporfiryny, która została zamknięta w wielowarstwowych nanokapsułach polielektrolitowych z ciekłym rdzeniem olejowym. Zarówno wolny jak i enkapsulowany fotouczulacz nie wykazał ciemnej toksyczności wobec ludzkich komórek płuc MRC-5 i A549. Inkorporowanie werteporfiryny w nanonośniku nie spowodowało założonego selektywnego dostarczenia nanofotouczulacza do komórek nowotworowych, co spowodowało niekorzystny efekt śmierci komórek prawidłowych MRC-5. Również micide polimerowe enkapsulujące fotouczulacze z grupy ftalocyjanin cynku charakteryzowały się niewielką cytotoxyczą wobec komórek piersi HMF i MCF-7. Z kolei ich naświetlenie pozwoliło na

zabicie prawie połowy populacji komórek nowotworowych w przypadku inkorporowanej ZnPc-o-oktyl8.

Ciekawe właściwości biologiczne wykazała również zamknięta we wspomnianych poliestrowych nanokapsułach tetrafenylporfiryna. W jej przypadku proces enkapsulacji pozwolił na uzyskanie przewagi w stosunku do jej wolnej formy w aspekcie selektywnego dostarczenia leku do komórek A549, aktywności fotodynamicznej a także właściwości prooksydacyjnych. Opracowany mikrosystem przepływowy pozwolił na ocenę skuteczności PDT na trzech rodzajach hodowli komórkowej: monokulturze, kokulturze oraz hodowli mieszanej. Nanokapsuły tetrafenylporfiryny spowodowały śmierć większości komórek nowotworowych w warunkach przepływowych bez uszkodzenia komórek zdrowych. Działanie cytostatyczne nanonośników zależne było od rodzaju prowadzonej hodowli.

Końcowym etapem pracy była ocena skuteczności skojarzonej terapii fotodynamicznej i chemioterapii z wykorzystaniem micel polimerowych koenkapsulujących cyjaninę IR-768 i daunorubicynę. Zastosowanie podejścia kombinowanego pozwoliło na osiągnięcie synergicznego wzmocnienia efektu terapeutycznego PDT względem komórek czerniaka A375. Najbardziej selektywne działanie wykazał układ micelarny, w którym stężenie fotouczulacza było 5-krotnie wyższe od cytostatyku. Za wysoką skuteczność wspomnianego układu odpowiedzialna była jego akumulacja w strukturach mitochondrialnych, silne właściwości prooksydacyjne (wydajne generowanie tlenu singletowego) oraz synergiczne oddziaływanie substancji aktywnych poprzez odmienne mechanizmy komórkowe. Ponadto, zastosowanie wielofunkcyjnego mikroprzepływowego systemu Lab-on-a-chip pozwoliło na zbadanie funkcji życiowych komórek rosnących w monokulturze, kokulturze (A375+HaCaT lub MeWo+HaCaT) oraz hodowli mieszanej (A375+HaCaT+MeWo). Wprowadzoną innowacją w stosunku do mikrosystemu I była możliwość kontrolowanego tworzenia różnych kokultur komórkowych. Różną proporcję komórek hodowanych w poszczególnych mikrokomorach można było osiągnąć poprzez odpowiednie sterowanie prędkościami przepływu wprowadzanych zawiesin komórkowych. Dodatkowo, dopasowanie geometrii mikrosystemu do układu pomiarowego czytnika płytek wielodołkowych zwiększyło przepustowość prowadzonych obserwacji. Badania prowadzone w mikroskali, ujawniły wysoką skuteczność micel polimerowych do terapii skojarzonej czerniaka. Zaobserwowane różnice w odpowiedzi biologicznej *in vitro* świadczą o potrzebie stosowania mikrosystemów Lab-on-a-chip jako analitycznie użytecznych narzędzi, pozwalających na lepsze odwzorowanie fizjologicznego mikrośrodowiska wzrostu komórek.

**Słowa kluczowe:** systemy Lab-on-a-chip, terapia fotodynamiczna, fotouczulacze, nanosystemy do podawania leków, terapia skojarzona