

Warszawa, 27.06.2018

STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Badania potencjalnego działania przeciwnowotworowego wybranych kompleksów złota z wykorzystaniem hodowli komórkowych *in vitro*

mgr Maja Haczyk-Więcek

W niniejszej rozprawie doktorskiej pt.: „*Badania potencjalnego działania przeciwnowotworowego wybranych kompleksów złota z wykorzystaniem hodowli komórkowych in vitro*” zbadano pięć kompleksów złota, tj. auranofinę, Aubipyc, Aubipy(OH)₂, Au₂phen i Auoxo6 pod kątem właściwości przeciwnowotworowych. Związki badano na liniach komórkowych nowotworowych (płuc – A549, czerniaka – A375) oraz odpowiadających im liniach prawidłowych (płuc – MRC-5, keratynocytów – HaCaT). Aktywność związków badanych porównywano z dobrze poznanym związkiem o charakterze przeciwnowotworowym i szeroko stosowanym lekiem chemioterapeutycznym – cisplatyną.

Głównym celem badań, była ocena cytotoksycznej aktywności wybranych kompleksów złota w porównaniu do związku referencyjnego – cisplatyny, wybranie związku o najwyższej aktywności, a następnie zbadanie go pod kątem właściwości przeciwnowotworowych, jako potencjalnego chemioterapeutyku do dalszych badań przedklinicznych. Do realizacji celów niniejszej pracy opracowane zostały dwa rodzaje układów badawczych, tj. zmodyfikowany mikroukład do badania cytotoksyczności oraz układ ekspozycyjny do obserwacji z wykorzystaniem mikroskopu konfokalnego. Komplementarnym celem pracy było przedstawienie przykładowego zestawu badań podstawowych (stworzonego w ramach projektowania przyszłej Dobrej Praktyki Badawczej), który w prosty sposób może pozwolić na określenie najważniejszych cech charakterystycznych dla związku o aktywności przeciwnowotworowej. Badania realizowano w ramach współpracy z zespołem Pani Prof. PW, dr hab. inż. Katarzyny Pawlak, z Katedry Chemii Analitycznej Wydziału Chemicznego Politechniki Warszawskiej, w ramach projektu pt. „*Opracowanie metod badania*”

zaburzeń równowagi jonomicznej i ich genezy w komórkach rakowych poddawanych działaniu cytostatyków”.

W części literaturowej rozprawy omówiono ważną rolę biotechnologii farmaceutycznej w poszukiwaniu i opracowywaniu nowych leków chemioterapeutycznych. Przytaczając statystyki zwrócono uwagę na wzrost zachorowań na choroby nowotworowe oraz problem braku skutecznych, a jednocześnie selektywnych i mało inwazyjnych leków chemioterapeutycznych. Wzięto pod rozważania temat poszukiwania nowych związków chemioterapeutycznych oraz możliwości zastosowania do tego celu kompleksowych związków złota.

W części badawczej pracy przedstawiono szczegółowo kompleksy złota wybrane do celów niniejszej pracy oraz linie komórkowe *in vitro* na których prowadzono badania. Omówiono zasady pracy z hodowlami komórkowymi w warunkach *in vitro*. Przedstawiono szczegółowo wszystkie metody wybrane do celów niniejszej pracy z uwzględnieniem zasady każdej metody oraz przebiegu oznaczenia. Opisano metody analizy statystycznej wyników oraz przedstawiono wyniki uzyskane w pracy.

Wszystkie wybrane do celów badawczych kompleksowe związki złota nie były badane do tej pory w takim modelu badawczym (biorąc pod uwagę wybrane metody oraz linie komórkowe).

W badaniach wykazano, że dla badanych linii komórkowych:

1. Najwyższą aktywność cytotoksyczną spośród badanych kompleksów w stosunku do związku referencyjnego – cisplatyny, wykazała auranofina.
2. Największą wrażliwością na auranofinę wykazały się linie: nowotworowa płuc A549 oraz prawidłowa płuc MRC-5.
3. Auranofina:
 - charakteryzuje się znacznie wyższą aktywnością cytotoksyczną niż cisplatyna.
 - charakteryzuje się niską selektywnością w stosunku do badanych komórek nowotworowych w porównaniu do cisplatyny. Podjęto próbę zwiększenia selektywności za pomocą metody elektroporacji, jednakże uzyskane wyniki nie wykazały istotności statystycznej.

- nie wywiera działania cytostatycznego, w przeciwieństwie do cisplatyny, która w przeprowadzonych badaniach blokowała cykl komórek nowotworowych w fazie S.
- posiada aktywność antyproliferacyjną, jednakże jest ona niższa od aktywności cisplatyny.
- działa proapoptotycznie. Działanie to (w porównaniu do cisplatyny) jest silniejsze w stosunku do komórek prawidłowych.
- wykazuje działanie prooksydacyjne, zbliżone do działania cisplatyny.
- indukuje zjawisko autofagii w większym stopniu niż cisplatyna.
- posiada zdolność do hamowania migracji komórek nowotworowych w znacznie większym stopniu niż cisplatyna.

Uzyskane wyniki uzupełniają bazę informacji i poszerzają dotychczasowy stan wiedzy na temat przeciwnowotworowego potencjału auranofiny. Stanowią one o wysokiej atrakcyjności auranofiny jako potencjalnego związku przeciwnowotworowego w leczeniu nowotworów płuc. Przed przyjęciem auranofiny do badań przedklinicznych, a następnie do pierwszej fazy badań klinicznych ukierunkowanych na zastosowanie tego związku w leczeniu chorób nowotworowych płuc, należałoby wykonać analogiczne badania na komórkach innych linii nowotworowych płuc (i m.in. potwierdzić lub wykluczyć brak działania auranofiny na cykl komórkowy), a ponadto podjąć próby zwiększenia selektywności związku, np. przy zastosowaniu enkapsulacji w nośnikach. Należałoby także wykonać pogłębione badania na poziomie molekularnym aby określić dokładny mechanizm molekularny działania związku (m.in. dotyczący jego zdolności do indukowania procesu autofagii i jej charakteru).

Słowa kluczowe: nowotwór, chemioterapeutyki, hodowle komórkowe *in vitro*, kompleksy złota.

Maja Kaczyńska - Wiściek