

Streszczenie

Temat:

Przedkliniczne zastosowanie makrofagów jako nośnika leków do guzów litych

Choroby nowotworowe stanowią jedno z największych wyzwań medycyny w całej historii ludzkości. Pomimo niebywałego wzrostu wiedzy na temat nowotworów zachorowalność oraz umieralność z roku na rok również wzrasta. W przypadku wielu nowotworów (szczególnie litych) główną metodą leczenia są leki cytostatyczne. Mimo ich wysokiej skuteczności w zabijaniu komórek nowotworowych wyniki terapii wciąż nie są satysfakcjonujące. Powodem jest ogólnoustrojowa toksyczność tych leków, gdzie działania niepożądane często przeważają nad korzyścią terapeutyczną. Dodatkowo skuteczność działania leków cytostatycznych często ograniczana jest przez mikrośrodowisko guza. Najważniejszą kwestią w projektowaniu terapii antynowotworowej jest ukierunkowanie zakresu działania leku przeciwnowotworowego, tak by ominąć ogólnosystemowe działanie. Do tej pory taki sukces odniosła immunoterapia CAR-T w leczeniu nowotworów hematologicznych. Nie wykazano natomiast istotnej skuteczności działania w nowotworach litych które stanowią większość przypadków. Wobec powyższego pomimo doniosłego i istotnego sukcesu terapii CAR-T, potrzeba na rozwijanie nowych terapii przeciwnowotworowych jest z roku na rok coraz większa.

Atrakcyjnym podejściem do zwiększania efektu terapeutycznego leków jest zamykanie ich wewnątrz różnych transporterów (np. białek), a następnie selektywne dostarczanie za pomocą komórek układu immunologicznego do określonych tkanek i komórek. Makrofagi to jedne z takich komórek, które ze względu na swoje właściwości fizjologiczne są w stanie dotrzeć wszędzie tam gdzie nie dociera większość substancji i komórek. Interesującym ze względu na funkcję i budowę białkiem mogącym służyć jako transporter leków jest ferrytyna. Jej unikalnym atutem jest 4-rzędowa struktura przypominająca budową sferyczną klatkę wewnątrz której w łatwy sposób można enkapsulować leki cytostatyczne. Przedmiotem rozprawy doktorskiej była walidacja, czy komórkowy system dostarczania substancji czynnej związanej z białkiem może stanowić skuteczny nośnik tego białka i prowadzi do eliminacji komórek nowotworowych w układzie *in vitro* oraz *in vivo*.

W pracy wykorzystano model pierwotnych ludzkich makrofagów uzyskanych z monocytów wyizolowanych z kożuszków leukocyтарно-пłytkowych pochodzących z krwi obwodowej zdrowych pacjentów. Komórki nowotworowe z linii komórkowych nowotworów ludzkich: potrójnie negatywnego raka piersi (MDA-MB-231), niedrobnokomórkowego raka płuc (A549) oraz raka jajnika (SKOV-3) hodowanych w warunkach *in vitro*. Materiał badawczy *in vivo* stanowiły myszy transgeniczne z niedoborem odporności. W badaniach także zostały wykorzystane cząsteczki mutantu ludzkiej ferrytyny połączone z odpowiednim znacznikiem fluorescencyjnym jak również z lekiem cytostatycznym. Zmodyfikowana ferrytyna (fluorescencyjna lub połączona z lekiem cytostatycznym) była inkubowana z

makrofagami lub monocytami, dzięki czemu uzyskiwano komórki MDC (Macrophage Drug Conjugate), wykorzystywane następnie w eksperymentach, które także stanowiły właściwy punkt oceny prowadzonych badań.

Wyniki przeprowadzonych doświadczeń wskazują, że makrofagi zachowują swoje właściwości podczas procesu kriokonserwacji, co w przyszłości może ułatwić ich zastosowanie kliniczne. Co więcej wykazano, że makrofagi efektywniej od monocytów pobierają i przenoszą pobraną ferrytynę do komórek nowotworowych. W eksperymentach *in vivo* potwierdzono, że makrofagi migrują do obszarów niedotlenionych wychodząc poza naczynia krwionośne.

W niniejszej pracy doktorskiej zastosowano opracowane w firmie Cellis dwa koniugaty ferrytyny z lekami cytostatycznymi HFt-735 i HFt-250. Po inkubacji wymienionych koniugatów z makrofagami otrzymano odpowiednio MDC-735 oraz MDC-250 czyli makrofagi niosące wewnątrz komórki kompleksy ferrytyny z lekiem 735 lub lekiem 250. Przedstawione rezultaty w ramach realizacji pracy doktorskiej pozwalają stwierdzić, że kompleks ferrytyna-lek zamknięty wewnątrz makrofagów działa cytotoksycznie wobec komórek nowotworowych ale nie powoduje przedwczesnego uszkodzenia makrofagów *in vitro*. Ponadto, potwierdzono skuteczność badanych kompleksów HFt-735 i HFt-250 zamkniętych wewnątrz makrofagów wobec ludzkich modeli raka jajnika i raka trzustki w warunkach *in vivo*. MDC-735 wykazało korzystny wpływ na zahamowanie guza u myszy z wszczepionym rakiem jajnika (SK-OV-3), analogicznie MDC-250 w raku trzustki (BxPC3).

Podsumowując, w niniejszej pracy przedstawiono nowy system dostarczania leku skompleksowanego z ferrytyną, który może być transportowany przez makrofagi w leczeniu guzów litych. Badania nad rozwojem terapii z wykorzystaniem makrofagów powinny być kontynuowane w dalszych przedklinicznych etapach.