

Autor: Natalia Masiera

Promotor: prof. Jacek Waluk

Tytuł: Porficyny w terapii fotodynamicznej komórek nowotworowych i fotodynamicznej inaktywacji bakterii

### Streszczenie

Terapia fotodynamiczna (z ang. photodynamic therapy – PDT) jest wykorzystywana w leczeniu niektórych nowotworów oraz stanów przednowotworowych. W ostatnich dekadach zyskała również duże zainteresowanie jako potencjalna metoda walki z infekcjami. W zastosowaniach antybakteryjnych, antygrzybiczych i antywirusowych zamiast PDT używa się bardziej adekwatnego określenia PDI (z ang. photodynamic inactivation). Zarówno PDT jak PDI opierają się na tej samej zasadzie działania, która wykorzystuje równoległe dwa czynniki – światło i fotouczulacz. Po ich dostarczeniu do komórki lub tkanki następuje produkcja reaktywnych form tlenu (z ang. reactive oxygen species – ROS), które są rzeczywistym czynnikiem zabijającym komórkę.

Prezentowana praca doktorska skupia się na grupie cząsteczek nazywanych porficynami. Są one badane pod kątem ich przydatności jako fotouczulaczy w PDT i PDI. Badania zostały podzielone na kilka części. Początek obejmował określenie własności fotofizycznych porficynów podstawionych kilkoma różnymi grupami oraz ocenę niezbędnych w PDT i PDI zdolności fotouczulających, takich jak wydajność generowania reaktywnych form tlenu. Druga, bardzo ważna część badań dotyczyła wyboru medium, za pomocą którego porficyny mogły zostać dostarczone do komórek nowotworowych i bakterii. Ten rozdział badań był szczególnie istotny, gdyż porficyny, jako związki silnie hydrofobowe, po ich umieszczeniu w środowisku wodnym natychmiast agregują, co jest efektem niepożądanym. Po wyborze odpowiedniej substancji pośredniczącej, możliwe było rozpoczęcie eksperymentów na bakteriach i komórkach nowotworowych. Zastosowane zostały trzy szczepy bakterii Gram-dodatnich: *E. faecalis*, *S. aureus* i *S. epidermidis*, na których sprawdzany był potencjał porficynów jako fotouczulaczy. Została również oceniona zależność między rodzajem podstawników w cząsteczce a jej aktywnością w PDI. Innym rozdziałem badań biologicznych były próby PDT na komórkach

HeLa oraz badania mikroskopowe mające na celu określenie lokalizacji chromoforów w komórkach.

Wyniki przedstawione w pracy doktorskiej dowodzą, że porficyny są obiecującymi fotouczulaczami do zastosowań terapeutycznych. Obok wysokich współczynników absorpcji charakteryzują się około 30% wydajnością generowania tlenu singletowego. Do eksperymentów biologicznych wybrane zostało medium pomocnicze w postaci micel z Pluronicu F-127. Badania wykazały, że niepodstawiony porficyn działa bardzo efektywnie w fotodynamicznej inaktywacji bakterii Gram-dodatnich. Całkowite usunięcie bakterii, przy obniżeniu ich ilości ponad milion razy następowało przy zastosowaniu stężenia porficynu 7  $\mu\text{M}$  oraz dawki światła czerwonego w zakresie 6 – 30  $\text{J}/\text{cm}^2$ .

Analiza zależności aktywności od struktury wykazała, że podstawienie porficynu *tert*-butylami obniża jego aktywność, podczas gdy podstawienie podobnymi grupami metoksyetylowymi nie wywołuje takiego efektu. Na podstawie dalszych obserwacji można wnioskować, że przyczyną tego jest ograniczone, ze względów sterycznych wnikanie cząsteczek podstawionych *tert*-butylami do komórek bakteryjnych. Podobne wyniki zostały otrzymane w przypadku fotosensybilizacji komórek HeLa. Również w tym przypadku większość porficynów efektywnie wywoływała śmierć komórek na drodze PDT i również w tym przypadku aktywność była blokowana przez podstawienie grupami *tert*-butylowymi. Badania mikroskopowe wykazały, że przyczyną jest lokalizacja *tert*-butylowej pochodnej w lizosomach, podczas gdy pozostałe porficyny lokowały się w cytoplazmie i błonie komórkowej.