

Popularnonaukowe streszczenie projektu

(cel projektu, badania realizowane w projekcie, powody podjęcia danej tematyki badawczej)

Chemo- oraz radioterapia to obecnie najczęściej stosowane metody leczenia onkologicznego. Jednak towarzyszące im objawy niepożądane tj. wrodzona lub nabyta oporność komórek nowotworowych oraz wysoka toksyczność ustrojowa wynikająca z nieswoistego działania, stanowią o ich poważnym ograniczeniu. W związku z tym konieczne jest opracowanie i rozwój nowych strategii terapeutycznych skierowanych wybiórczo na komórki nowotworowe. W chwili obecnej duże zainteresowanie wzbudza **fotoimmunoterapia (PIT), która pozwala na precyzyjne, wycelowane dostarczenie fotouczulacza na powierzchnię komórki nowotworowej.** Kluczową rolę odgrywa w tej metodzie tzw. wektor ukierunkowujący fotouczulacz na odpowiedni antygen. Najczęściej wykorzystywanymi w tym celu wektorami ze względu na dużą specyficzność wiązania są przeciwciała monoklonalne (mAb). Jednak ich duża masa cząsteczkowa sprawia, iż słabo penetrują w głąb guza i stosunkowo wolno usuwane są z organizmu. Dlatego w swoich badaniach proponujemy wykorzystać nowy nośnik – cząsteczki affibody, które są około 25 razy mniejsze niż przeciwciała, dzięki czemu szybciej docierają do guza i łatwiej eliminowane są z organizmu. Wydaje się zatem, iż wektor oparty na **cząsteczkach affibody (specyficznie wiążących się z receptorem HER2) i skoniugowany z fotouczulaczem, będzie wykazywał znaczącą aktywność w indukowaniu selektywnej śmierci komórkowej w nowotworach z wysoką ekspresją receptora HER2, przy jednoczesnym ograniczeniu toksyczności w zdrowych tkankach.**

Wektor oparty na cząsteczkach affibody specyficznie wiążących się z receptorem HER2 i skoniugowany z fotouczulaczem, będzie wykazywał znaczącą aktywność w indukowaniu selektywnej śmierci komórkowej w nowotworach z wysoką ekspresją receptora HER2, przy jednoczesnym ograniczeniu toksyczności w zdrowych tkankach.

Celem projektu będzie zatem:

- Optymalizacja reakcji koniugacji cząsteczek affibody z ftalocjaniną (IR700), ustalenie optymalnych warunków kinetyki wiązania immunokonjugatów oraz zbadanie efektu terapeutycznego *in vitro* na liniach komórkowych z nadekspresją receptora HER2.
- Ocena odpowiedzi terapeutycznej immunokonjugatu *in vivo* na modelach ksenograftów z nadekspresją receptora HER2.

Cząsteczki affibody specyficznie wiążące się z receptorem HER2 połączone zostaną z ftalocjaniną IR700 poprzez grupę maleimidową. Po optymalizacji koniugacji, wektor będzie dokładnie scharakteryzowany *in vitro* na liniach komórkowych z różną ekspresją HER2 (badania powinowactwa wiązania oraz internalizacji).

W badaniach fototoksyczności *in vitro* komórki traktowane będą: (i) Affi_{HER2}IR700, (ii) IR700 przez 1 i 4 godziny. Poszczególne grupy eksperymentalne będą następnie naświetlane światłem czerwonym o długości fali 670-690 nm i mocy 10 mW/cm². Po 24, 48 i 72 godzinach od naświetlania oceniana będzie proliferacja komórek za pomocą standardowego, kolorymetrycznego testu. MTS. W celu oceny wpływu terapii na ekspresję receptorów HER1/HER2/HER3 oraz drogi sygnałowej m.in. szlak PI3K/AKT/mTOR wykonane zostaną testy immunohistochemiczne oraz Western blot. Dodatkowo oznaczone będą parametry stresu oksydacyjnego w celu analizy odpowiedzi badanych komórek na zastosowane parametry.

Badania farmakokinetyczne immunokonjugatu przeprowadzone zostaną na modelu zwierzęcym. Ksenografty otrzymane będą poprzez podskórne wszczepienie komórek raka z wysoką oraz niską ekspresją receptora (SKOV-3, MDA-MB-231) w okolice prawego przedramienia. Ogólnoustrojowa dystrybucja będzie oceniana przy zastosowaniu różnych dawek koniugatu w kilku punktach czasowych. Następnie myszy będą uśmiercane, a ich główne narządy oraz guzy wycięte i obrazowane za pomocą systemu IVIS-Spectrum. Zahamowanie wzrostu guza przez immunoconjugat będzie analizowane po dożylnym podaniu: i) soli fizjologicznej, ii) Affi_{HER2}IR700 lub iii) IR700. Następnie guzy zostaną naświetlone przy użyciu diody (L680-66-60) emitującej światło z zakresu bliskiej podczerwieni (670-710 nm) o gęstości energii 100 J/cm².

Zaproponowany projekt badawczy ma charakter badań podstawowych, mających na celu scharakteryzowanie nowego immunokonjugatu dla PIT, który w przyszłości może przyczynić się do powstania nowych i skutecznych strategii terapeutycznych dla pacjentów z HER2 pozytywnymi nowotworami.