**INSTYTUT CHEMII I TECHNIKI JĄDROWEJ**

Centrum Radiobiologii i Dozymetrii Biologicznej

**Nanozeolit NaA funkcjonalizowany przeciwciałem
anty-PSMA i znakowany radionuklidem 223Ra jako potencjalny radiofarmaceutyk dla celowanej terapii raka stercza**

**Malwina Czerwińska**

Promotorzy pracy: prof. dr hab. Anna Lankoff

 prof. dr hab. Aleksander Bilewicz

W krajach wysoko rozwiniętych rak prostaty jest obecnie jednym z najczęściej stwierdzanych nowotworów złośliwych w populacji męskiej i drugą przyczyną zgonów nowotworowych. Chociaż pierwotny rak stercza może być efektywnie leczony za pomocą wielu rodzajów terapii, u 30-50 % pacjentów dochodzi do rozwinięcia się oporność na leczenie. Średnia długość życia mężczyzn z rakiem opornym na leczenie kastracyjne wynosi 12 miesięcy, a główną przyczyną zgonów jest nieuleczalny obecnie, przerzutowy rak stercza. W związku z bardzo dużą zachorowalnością i umieralnością na raka stercza, istnieje pilna potrzeba rozwoju nowych sposobów terapii i opracowania nowych związków do celowanej terapii.

Przedmiotem niniejszej rozprawy było otrzymanie nowego radiobiokoniugatu 223RaA-silan-PEG-D2B, opartego na nośniku nanozeolitowym NaA, modyfikowanym powierzchniowo związkiem silan-PEG-NH2, funkcjonalizowanym przeciwciałami anty-PSMA D2B i znakowanym radionuklidem 223Ra do celowanej terapii raka prostaty.

Część literaturowa opisuje epidemiologię i podstawowe metody leczenia raka prostaty, potencjalne cele molekularne, ligandy ukierunkowane na receptor PSMA oraz radionuklidy używane w celowanej terapii raka prostaty. Przedstawiono również wyniki dotychczasowych badań przedklinicznych i klinicznych z zastosowaniem ligandów ukierunkowanych na receptor PSMA i znakowanych radionuklidami do celowanej terapii raka prostaty. Szczególną uwagę poświęcono radionuklidowi 223Ra, jego zastosowaniu klinicznemu, charakterystyce fizykochemicznej oraz różnym sposobom jego kompleksowania oraz immobilizacji z wykorzystaniem nanomateriałów. Dalej w części literaturowej opisano budowę strukturalną, właściwości i metody syntezy zeolitu oraz nanozeolitu typu A.

Część eksperymentalna pracy obejmuje szczegółowy opis fizykochemicznych (HR-SEM, TEM, XRD, FTIR, EDS, NTA, DLS, BET, TGA) i biologicznych metod (MTT, Aneksyna V/jodek propidyny, aktywność kaspaz 3/7, analiza ekspresji genów prozapalnych za pomocą metody RT-PCR), które zastosowano w pracy oraz opis warunków optymalizacji syntezy nanozeolitu NaA. Następnie zaprezentowano i omówiono otrzymane wyniki w oparciu o dostępną literaturę naukową. Przeprowadzono szereg badań, w wyniku, których zoptymalizowano syntezę nanozeolitów NaA metodą hydrotermalną. Pozwoliła ona na uzyskanie nośników o średnich rozmiarach ~120 nm, stosunkowo wąskim rozkładzie wielkości cząstek, jednorodnym kształcie, rozwiniętej mikro-mezoporowatości, jak również o dużym stopniu krystaliczności i czystości fazowej. Następnie przedstawiono wyniki badań, dotyczące znakowania nanocząstek zeolitu NaA radionuklidem 223Ra. Uzyskano maksymalną aktywność przypadającą na 1 mg nanozeolitu, wynoszącą 0,65 MBq. Następnie opisano kolejne badania, w wyniku których zoptymalizowano proces modyfikacji powierzchni nanocząstek zeolitu NaA związkiem silanowym zawierającym polietylenoglikol oraz proces funkcjonalizacji przeciwciałem anty-PSMA D2B. W wyniku przeprowadzonych badań otrzymano nośniki, których powierzchnia zawierała około 50 cząsteczek przeciwciał. Badania stabilności radiobiokoniugatu wykazały, że otrzymany produkt charakteryzował się dużą stabilnością *in vitro* (>95% do 12 dni). W tym samym czasie retencja izotopów pochodnych 211Pb i 211Bi w 0.9% NaCl ludzkiej surowicy wynosiła poniżej 6%.

W dalszej części przedstawiono wyniki badań biologicznych *in vitro*, dotyczących toksyczności nanocząstek zeolitowych NaA jako nośników, ze szczególnym uwzględnieniem procesów cytotoksycznych i prozapalnych oraz skuteczności otrzymanego radiobiokoniugatu jako emitera promieniowania α, ze szczególnym uwzględnieniem jego specyficzności w wiązaniu się do receptorów PSMA na PSMA-pozytywnych komórkach nowotworowych (LNCaP C4-2), jego internalizacji oraz radiotoksyczności. Uzyskane wyniki testu MTT wykazały, że nośniki zeolitowe NaA nie miały wpływu na aktywność metaboliczną prawidłowych (RWPE-1) i nowotworowych komórek prostaty (LNCaP C4-2 oraz DU-145), nie indukowały nekrozy i apoptozy, nie zwiększały aktywności apoptotycznych kaspaz 3/7 oraz miały niewielki wpływ na zmiany ekspresji genów prozapalnych. Natomiast otrzymany radiobiokoniugat charakteryzował się wysoką specyficznością w wiązaniu do receptorów PSMA, bardzo szybką internalizacją do komórek PSMA-pozytywnych, ale nie do komórek PSMA-negatywnych (DU-145), jak również znaczną radiotoksycznością wobec komórek PSMA-pozytywnych.

Rozprawę kończą wnioski wysnute na podstawie wyników badań i ich analizy oraz konkluzje dotyczące możliwości wykorzystania otrzymanego związku w terapii raka prostaty.