

ABSTRACT

Although not widely used, Auger electron emitter therapy shows promise as a selective strategy for cancer treatment. The low-energy Auger electrons are emitted by radioisotopes that decay through electron capture or internal conversion processes. Typically, 5 to more than 35 Auger electrons, with energies ranging from a few eV to approximately 1 keV, are emitted per decaying atom. The linear energy transfer (LET) of Auger electrons ranges from 4 to 26 keV/ μm . This makes them capable of inducing double-stranded DNA breaks. The therapeutic efficacy of Auger electron targeted radiotherapy can be increased by the simultaneous combination of low- and high-LET radiation. Therefore, we introduce the concept of using ^{109}Pd ($T_{1/2} = 13.7$ h) in the form of a $^{109}\text{Pd}/^{109\text{m}}\text{Ag}$ *in vivo* generator. ^{109}Pd undergoes β^- decay to $^{109\text{m}}\text{Ag}$ (39.6 s), thereafter transitioning to stable ^{109}Ag , comprising the emission of 88-keV photons and the cascade release of conversion and Auger electrons. Hence, we can take the advantages of both β^- and Auger electrons, by inducing the cross-fire effect and DNA double-strand breaks, respectively.

Due to the unique properties of nanoparticles for cancer diagnosis and treatment, this study utilized palladium radionuclide in the form of ^{109}Pd nanoparticles (5 nm) and $\text{Au}@^{109}\text{Pd}$ core-shell nanoparticles (15 nm). Core-shell $\text{Au}@^{109}\text{Pd}$ nanoparticles were conjugated with the monoclonal antibodies trastuzumab and panitumumab to specifically target the Her2 and EGFR receptors, respectively, and small PEGylated Pd nanoparticles were investigated for the therapy of hepatocellular carcinoma (HCC). The most important part of the thesis consists of numerous studies carried out *in vitro* using adherent cell cultures and three-dimensional spheroids as tumor models with a defined microenvironment. The accumulation of ^{109}Pd -PEG nanoparticles and $\text{Au}@^{109}\text{Pd}$ in the cell nuclei or cell nuclei membrane led to DNA double-strand breaks (DSBs) and cell viability reduction, even at low doses. Moreover, in order to conduct comparative studies, Pd, and $\text{Au}@^{109}\text{Pd}$ nanoparticles were also labeled by chemisorption with radionuclides ^{125}I (Auger emitter) and ^{131}I (β^- and γ -emitter). Results showed that ^{109}Pd -labeled Pd nanoparticles were significantly more cytotoxic than those labeled with either ^{131}I or ^{125}I . Studies with $\text{Au}@^{109}\text{Pd}$ -trastuzumab radiobioconjugates showed that despite the lack of nuclear localization, a cytotoxic effect was achieved by aggregation of $\text{Au}@^{109}\text{Pd}$ -trastuzumab conjugates in the perinuclear area. In contrast, $\text{Au}@^{109}\text{Pd}$ -panitumumab radiobioconjugates in MDA-MB-231 cells show similar internalization but significant transport into the cell nucleus (>10%).

The doctoral thesis consists of an introduction, an evaluation of the four attached publications, and a summary and conclusions. The thesis also includes an appendix in which I have included unpublished results related to the properties of *in vivo* generators in the form of a ^{103}Pd cyclam complex and $\text{Au}@^{103}\text{Pd}$ core-shell nanoparticles.

ABSTRAKT

Mimo, braku szerokiego zastosowania terapia z wykorzystaniem emiterów elektronów Augera jest uważana za obiecującą strategię selektywnego leczenia raka, szczególnie jego przerzutów. Niskoenergetyczne elektrony Augera są emitowane przez radioizotopy, które rozpadają się poprzez wychwyt elektronów lub w wyniku konwersji wewnętrznej jądra. Liniowy transfer energii (LET) elektronów Augera jest wysoki i mieści się w zakresie od 4 do 26 keV/ μm . Dzięki temu mogą one wywoływać podwójnoniciowe pęknięcia DNA. Ostatnio stwierdzono, że skuteczność terapeutyczna wewnętrznej radioterapii może zostać istotnie zwiększona poprzez jednoczesne stosowanie promieniowania o niskim i wysokim LET. Dlatego w mojej pracy zaproponowałam wykorzystanie radionuklidu ^{109}Pd ($t_{1/2}=13,7$ h) w postaci generatora *in vivo* $^{109}\text{Pd}/^{109\text{m}}\text{Ag}$. ^{109}Pd ulega rozpadowi β^- do $^{109\text{m}}\text{Ag}$ ($t_{1/2}=39,6$ s), a następnie przechodzi w stabilny ^{109}Ag , emitując kwant gamma 88 keV oraz elektrony konwersji i Augera. Pozwala to wykorzystanie zalet zarówno cząstek β^- (efekt ognia krzyżowego) jak i elektronów Augera, indukując dwuniciowe pęknięcia DNA.

Ponieważ nanocząstki pozwalają na uzyskanie wysokich aktywności właściwych, w moich badaniach wykorzystałam radionuklid ^{109}Pd w postaci nanocząstek ^{109}Pd (5 nm) oraz nanocząstek typu „core shell” $\text{Au}@^{109}\text{Pd}$ (15 nm). Aby specyficznie ukierunkować je odpowiednio na receptory Her2 i EGFR, nanocząstki $\text{Au}@^{109}\text{Pd}$ zostały skoniugowane z przeciwciałami monoklonalnymi trastuzumabem i panitumumabem, a 5 nm nanocząstki stosowano w postaci koniugatu ^{109}Pd NPs z PEG. Najistotniejszą część rozprawy stanowią badania przeprowadzone w warunkach *in vitro* z wykorzystaniem hodowli komórek adherentnych oraz trójwymiarowych sferoidów, jako modeli guza o zdefiniowanym i ukształtowanym mikrośrodowisku. Akumulacja nanocząstek ^{109}Pd -PEG i $\text{Au}@^{109}\text{Pd}$ w jądrach komórkowych lub na błonie jąder komórkowych doprowadziła do dwuniciowych pęknięć DNA i zmniejszenia żywotności komórek. W celu przeprowadzenia badań porównawczych, nanocząstki Pd i $\text{Au}@^{109}\text{Pd}$ znakowano metodą chemisorpcji radionuklidami ^{125}I (emiter elektronów Augera) i ^{131}I (emiter β^- i γ). Otrzymane wyniki wykazały, że nanocząstki Pd znakowane ^{109}Pd były znacznie bardziej cytotoksyczne niż znakowane ^{131}I lub ^{125}I . Badania z radiobiokoniugatami $\text{Au}@^{109}\text{Pd}$ -trastuzumab wykazały, że pomimo braku lokalizacji jądrowej, efekt cytotoksyczny uzyskano poprzez agregację radiokoniugatów $\text{Au}@^{109}\text{Pd}$ -trastuzumab i ich kumulację w obszarze okołojądrowym. Natomiast radiobiokoniugaty $\text{Au}@^{109}\text{Pd}$ -panitumumab w komórkach MDA-MB-231 wykazywały obok wysokiej internalizacji, także znaczny transport do jądra komórkowego ($>10\%$). Rozprawa doktorska składa się ze wstępu, omówienia czterech załączonych publikacji oraz podsumowania i wniosków. Praca zawiera również dodatkowy rozdział, w którym zamieściłam niepublikowane wyniki dotyczące właściwości generatorów *in vivo* opartych na również obiecującym emiterze elektronów Augera, ^{103}Pd .