

STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM

Nowotwory są grupą chorób, które powodują ogromne problemy na skalę globalną. Stanowią one drugą najczęstszą przyczynę zgonów na świecie, a liczba nowych przypadków stale rośnie. Współcześnie stosowane terapie mają wiele ograniczeń, a ponadto wiążą się z efektami ubocznymi, negatywnie wpływającymi na jakość życia pacjentów. W związku z tym stale poszukuje się nowych strategii w terapii przeciwnowotworowej, które byłyby pozbawione tych wad i poprawiłyby efektywność stosowanego leczenia. Obecnie medycyna pokłada duże nadzieje w wykorzystaniu nanosystemów opartych na nanocząstkach jako nośnikach terapeutycznych molekuł.

W niniejszej pracy doktorskiej oceniono możliwość wykorzystania karbokrzemowych dendrymerów z atomami miedzi (CCD) z ligandami azotanowymi i chlorkowymi jako nośników proapoptotycznego siRNA oraz leków w terapii przeciwnowotworowej.

Przeprowadzona charakterystyka biofizyczna dendrymerów potwierdziła, że mają one dodatni ładunek i oddziałują z HSA oraz błonami lipidowymi komórek. Wyniki badań wykazały również, że badane dendrymery są bardziej toksyczne wobec komórek nowotworowych niż prawidłowych.

W pracy wykorzystano szereg metod biofizycznych mających na celu sprawdzenie czy badane metalodendrymery tworzą kompleksy z przeciwnowotworowym siRNA. W tym celu zastosowano następujące techniki: agarozową elektroforezę żelową, pomiary potencjału zeta i średnicy hydrodynamicznej, oraz spektropolarymetrię dichroizmu kołowego. Wykazano, że w przeciwieństwie do dendrymerów generacji zerowej, dendrymery generacji pierwszej i drugiej tworzą kompleksy z siRNA. Wykryto protekcyjne działanie tych dendrymerów przed degradacją kwasu nukleinowego w obecności RNaz. Badania *in vitro* potwierdziły, że dendrymery CCD mogą wprowadzać lecznicze siRNA do komórek nowotworowych linii MCF-7. Zaobserwowano, że po 72 godzinach inkubacji komórek nowotworowych z kompleksami CCD_n/siRNA następuje znaczny spadek ich żywotności.

Następna część pracy obejmowała ocenę zdolności badanych dendrymerów do tworzenia kompleksów z trzema komercyjnie dostępnymi lekami przeciwnowotworowymi: doksorubicyną (DOX), metotreksatem (MTX) i 5-fluorouracylem (5-Fu). Pomiary potencjału zeta i średnicy hydrodynamicznej potwierdziły hipotezę, iż dendrymery CCD tworzą kompleksy z wybranymi lekami. Badania *in vitro* wykazały synergistyczny efekt działania dendrymerów skoniugowanych z lekami (DOX, MTX i 5-FU). Powstałe kompleksy wykazywały większą cytotoksyczność wobec komórek nowotworowych niż wolne dendrymery lub leki, powodując wzmożoną produkcję RFT i depolaryzację błony mitochondrialnej. Za pomocą techniki cytometrii przepływowej z zastosowaniem podwójnego barwienia (aneksyną V-FITC - jodek propidyny) wykazano, że obecność dendrymerów powoduje wzrost odsetka komórek apoptotycznych i nekrotycznych w zawiesinie komórek linii MCF7 w zależności od zastosowanego dendrymeru.

Podsumowując wyniki przeprowadzonych badań, można wnioskować, że karbokrzemowe dendrymery z atomami miedzi wykazują właściwości przeciwnowotworowe i mogą być rozważane jako potencjalne nośniki leków i kwasów nukleinowych do komórek nowotworowych.

STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM

Cancers are a group of diseases that pose significant global challenges. They are the second leading cause of death worldwide, and the number of new cases continuously rising. Currently used conventional therapies have many limitations and are associated with side effects that negatively impact the quality of patients' life. Consequently, there is a constant search for new strategies in anticancer therapy that would be devoid of these drawbacks and improve the effectiveness of treatment. Currently, oncology holds huge hopes for utilizing nanosystems based on nanoparticles, as therapeutic carriers.

This PhD thesis describes the potential of carbosilane copper dendrimers (CCD) with nitrate and chloride ligands as carriers of proapoptotic siRNA and anticancer drugs to tumour cells. Performed biophysical characterization of studied dendrimers shows that they are positively charged and are able to interact with proteins and cell membranes. Obtained results indicate that CCD dendrimers are more toxic towards cancer cells than to normal cells.

In this work, a number of biophysical methods were applied to verify that CCD dendrimers are able to form the complexes with anti-tumor siRNA. The gel electrophoresis, DLS, zeta potential, fluorescence polarisation, circular dichroism, flow cytometry, transmission microscopy, and confocal microscopy techniques were used for this purpose. It was shown that, unlike "0" generation, dendrimers of the generations 1st and 2nd were able to form the complexes with siRNA. The protective effect of the dendrimers against siRNA degradation at the presence of RNases was additionally demonstrated. *In vitro* studies indicate that CCD dendrimers were able to transfect siRNAs into MCF-7 cells. The 72 hours of incubation of MCF-7 cells with siRNA/dendrimer complex decreased the cells viability significantly.

Next part of work was aimed to analyse the ability of CCD dendrimers to complex anticancer drugs such as doxorubicin (DOX), methotrexate (MTX), and 5-fluorouracil (5-Fu). The results of zeta potential and DLS measurements have shown that copper dendrimers can form a stable complexes with mentioned drugs. *In vitro* studies demonstrated a synergistic effect between dendrimers and drugs (DOX, MTX, and 5-FU). Formed complexes were significantly more cytotoxic against cancer cells than uncomplexed drugs or dendrimers. Dendrimer/drug complexes caused increase in ROS production and mitochondrial membrane depolarization. The flow cytometry assay with the use of double staining

(annexin V-FITC - propidium iodide) showed an increase in the percentage of both apoptotic and necrotic cells depending on the dendrimer used.

Summarizing, we conclude that carbosilane copper dendrimers show significant anticancer effect, and are able to complex and deliver the drugs and siRNA to cancer cells, which allow us to consider them as prospective drug carriers.