

## STRESZCZENIE

Choroby nowotworowe są poważnym problemem współczesnej medycyny klinicznej i farmakologii. Ostre białaczki szpikowe należą do nowotworów złośliwych o gwałtownym przebiegu, które bez podjęcia leczenia mogą spowodować śmierć nawet w ciągu kilku tygodni. Sposób terapii zależy od rodzaju białaczki oraz od wieku chorego i schorzeń towarzyszących. Pomimo znacznego postępu w chemioterapii nowotworów, wciąż występują duże trudności z leczeniem ostrych białaczek, szczególnie u pacjentów po 65 roku życia, którzy stanowią znaczną część chorych. Stosowanie leków cytostatycznych jest często ograniczone ze względu na ich toksyczne działanie na zdrowe komórki organizmu i liczne działania niepożądane, niejednokrotnie będące zagrożeniem dla życia pacjenta. Jednym z takich skutków ubocznych jest neutropenia, która może przyczynić się do groźnych infekcji bakteryjnych. W celu zapobiegania tego typu powikłaniom stosuje się antybiotyki przeciwbakteryjne. Należy jednak wziąć pod uwagę, że również one mogą wywoływać działania niepożądane, tym samym pogarszając stan pacjenta. Mechanizmy oddziaływania wielu grup leków na poszczególne struktury i procesy komórkowe są bardzo złożone i wciąż nie w pełni poznane. Obecnie prowadzone są intensywne badania mające na celu poznanie owych oddziaływań, zmniejszenie toksyczności cytostatyków i polepszenia ich właściwości terapeutycznych.

Celem niniejszej pracy jest charakterystyka *in vitro* zmian właściwości biomechanicznych komórek ostrej białaczki szpikowej oraz nanostrukturalnych i mechanicznych nici DNA pod wpływem oddziaływania antybiotyków przeciwnowotworowych i przeciwbakteryjnych. Jednym z głównych celów oddziaływania leków cytostatycznych jest DNA komórki nowotworowej, które w wyniku nabytych mutacji różni się istotnie od prawidłowego genomu. Istnieje zatem potrzeba określenia wpływu cytostatyków zarówno na kwasy nukleinowe, jak i całe komórki. Jako leki przeciwnowotworowe zostały wybrane antybiotyki antracyklinowe – dokсорubicyna, daunorubicyna i epirubicyna. Z kolei, antybiotyki przeciwbakteryjne stanowiły aminoglikozydy (kanamycyna, neomycyna, tobramycyna). Obiektami oddziaływania dla badanych leków były zakupione fragmenty DNA, a także mieloidalne komórki blastyczne wyizolowane ze szpików kostnych pobranych od pacjentów Kliniki Hematologii, Chorób Krwi i Transplantologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu chorych na ostrą białaczkę szpikową. Dodatkowo zbadano przenikanie antracyklin do erytrocytów i ich wpływ na właściwości mechaniczne krwinek czerwonych jako przedstawicieli komórek bezjądrzastych.

Charakterystyka zmian strukturalnych została wykonana za pomocą technik nanoskopowych, takich jak mikroskopia sił atomowych (AFM) i transmisyjna mikroskopia elektronowa (TEM). Dodatkowo, wykonano symulację dynamiki molekularnej oddziaływania cząsteczek leków z DNA. Badania właściwości biomechanicznych kwasu nukleinowego oraz komórek blastycznych zostały przeprowadzone za pomocą nowoczesnej techniki pęsety optycznej. Zostały wykonane również badania lokalizacji wewnątrzkomórkowej cytostatyków za pomocą mikroskopii konfokalnej.

W wyniku przeprowadzonych badań zaobserwowano istotne zmiany strukturalne DNA indukowane oddziaływaniem antybiotyków antracyklinowych. Leki te poprzez interkalację spowodowały wydłużenie nici kwasu nukleinowego i zmniejszenie jej wysokości. Zmiany te były zależne od zawartości par zasad guaninowych i cytozynowych (GC) i stężenia leku. Rezultaty symulacji dynamiki molekularnej wykazały również skłonność antracyklin do wydłużania nici DNA. Ponadto, antracykliny spowodowały zmniejszenie sztywności helisy DNA.

W przypadku aminoglikozydów wykazano istotne różnice pomiędzy mechanizmem działania na DNA antybiotyków należących do I generacji, takich jak kanamycyna i neomycyna a przedstawicielem II generacji – tobramycyną. Ostatni lek spowodował uporządkowaną

kondensację nici DNA do różnych form strukturalnych – szczególnie pałeczek, toroidów i sfer. Symulacja dynamiki molekularnej interakcji tobramycyny z DNA sugeruje, że obserwowany efekt kondensacji jest wynikiem oddziaływania tobramycyny poprzez obydwie rowki podwójnej helisy w taki sposób, że dochodzi do jej zginania. Z kolei, kanamycyna i neomycyna spowodowały bezpośrednie uszkodzenia DNA, takie jak pęknięcia nici kwasu nukleinowego.

Zaobserwowano również zmiany właściwości mechanicznych komórek blastycznych po oddziaływaniu antracyklin. W początkowej fazie oddziaływania leków sztywność komórek z reguły malała, podczas gdy po dłuższej inkubacji z lekami wzrastała. Badania za pośrednictwem mikroskopu konfokalnego umożliwiły ocenę przenikania leków do komórek oraz ich wewnętrzną lokalizację. Zaobserwowano zależność pomiędzy obecnością pewnych markerów immunofenotypowych, wiążących się z bardziej agresywnym przebiegiem choroby, a słabszą lub brakiem internalizacji leku do jądra komórkowego, co jest charakterystyczną cechą komórek opornych na dany cytostatyk. Antracykliny przenikały również do erytrocytów pobranych z krwi pacjentów z AML oraz zmniejszały ich sztywność. Wyniki badań mogą w istotny sposób wpłynąć na zrozumienie zmian fizjologicznych i genetycznych komórki będących skutkiem chemioterapii oraz umożliwić poszukiwanie nowych strategii leczenia chorób nowotworowych, a przede wszystkim pomóc w ustaleniu precyzyjnej, indywidualnej dawki leku dla pacjenta oraz zapobiegać skutkom ubocznym poprzez minimalizację dawki przy zachowaniu skuteczności leczenia.