

Streszczenie

Terapia borowo-neutronowa (ang. *Boron Neutron Capture Therapy* – BNCT) to odmiana hadronoterapii, która jest oparta na zdolności wychwytu neutronów na jądrze izotopu ^{10}B oraz na reakcjach rozpadu. Pod wpływem tej reakcji, jądro boru rozpada się na wysokoenergetyczną cząsteczkę alfa i ^7Li , które przemieszczają się w obrębie komórki nowotworowej. BNCT jest metodą bimodalną, co oznacza, że najpierw musi być podany związek zawierający w swojej budowie strukturalnej izotop ^{10}B (BPA lub BSH), a następnie poddaje się działaniu promieniowania neutronowego. Skuteczność terapii zależy od równomierności rozkładu związku ^{10}B wewnątrz komórek nowotworowych. W powyższej pracy badano uwrażliwiający wpływ nanocząstek złota (GNPs) na komórki nowotworowe piersi typu trójemnego MDA-MB-231 i luminalnego MCF-7 w terapii borowo-neutronowej. Głównym celem pracy badawczej było zbadanie możliwości zwiększenia efektywności terapii borowo-neutronowej za pomocą nanocząstek złota w komórkach nowotworowych piersi typu trójemnego i luminalnego.

Badania wykonywano w Narodowym Centrum Badań Jądrowych w Świerku, gdzie jako źródło promieniowania mieszanego był reaktor badawczy MARIA. Promieniowanie mieszane składało się w 50%-ach z promieniowania gamma i w 50%-ach z promieniowania neutronowego. Do eksperymentu wykorzystano dwie linie komórkowe nowotworów piersi MDA-MB-231 i MCF-7. GNPs wykorzystano w dwóch rozmiarach: 50 nm i 100 nm oraz zastosowano 4-godzinna i 24-godzinna inkubację z komórkami. Jako nośnik izotopu ^{10}B do badań wykorzystano borofenyloalaninę (BPA).

Wykonano test cytotoksyczności MTT w celu zoptymalizowania badań pod kątem doboru odpowiednich stężeń GNPs i BPA. Z eksperymentu wynikało, że badane stężenia zarówno GNPs, jak i BPA pod kątem 4-godzinnego czasu inkubacji komórek z nanocząstkami złota, nie wykazują istotnych statystycznie różnic pomiędzy poszczególnymi próbami. W przypadku inkubacji 24-godzinnej z GNPs istotne statystycznie były wszystkie próby badawcze, przy czym w MDA-MB-231 aktywność metaboliczna wzrosła, a w MCF-7 – spadła. Oznacza to, że każde z zaproponowanych stężeń byłoby odpowiednie do przeprowadzenia badań nad BNCT na komórkach nowotworowych piersi. GNPs dodawano w stężeniu 8 μl na 1 ml pożywki oraz 30 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ BPA. W celu analizy wnikania nanocząstek do komórek zbadano współczynnik SSC. W teście wykazano, że GNPs 100 nm wnikają lepiej w połączeniu z BPA

po inkubacji 24h z komórkami MDA-MB-231. Natomiast, w komórkach MCF-7 lepiej wnikają GNPs 50 nm po inkubacji 24-godzinnej.

W celu zbadania wpływu GNPs w połączeniu z BNCT na komórki nowotworowe piersi wykonano analizę progresji cyklu komórkowego, przeżywalności komórkowej, nieprawidłowej naprawy uszkodzeń DNA poprzez zbadanie częstości występowania mikrojąder, poziomu DSBs w komórkach na podstawie intensywności fluorescencji ognisk naprawczych γ -H2AX oraz poziomu apoptozy komórek. Uzyskane wyniki badań były zróżnicowane i wpływ na nie miał również typ traktowanych komórek nowotworowych piersi. W cyklu komórkowym zauważono zwiększony procent komórek w fazie G₂ cyklu w obu liniach komórkowych po zastosowaniu już nawet samego promieniowania, przy czym w komórkach MDA-MB-231 blok komórek w fazie G₂/M był na wyższym poziomie. Dodatkowe traktowanie komórek GNPs i BPA zwiększało poziom komórek w fazie G₂ cyklu. Taki wynik świadczy o tym, że DNA komórek zostało poważnie uszkodzone pod wpływem interakcji GNPs z BPA i z promieniowaniem mieszanym, co spowodowało dysfunkcję punktów kontrolnych cyklu komórkowego. Komórki nowotworowe piersi typu trójujemnego MDA-MB-231 wykazały większe uszkodzenia po takim traktowaniu niż komórki typu luminalnego - MCF-7. W przypadku obu linii komórkowych, GNPs 100 nm z inkubacją 24h w połączeniu z BPA zwiększały efektywność terapii najlepiej. Sugeruje to, że większe nanocząstki efektywniej wpływają na poziom uszkodzeń DNA w interakcji z BPA i promieniowaniem.

Przeżywalność komórkowa w obu liniach komórkowych znacznie się zmniejszyła po napromienieniu komórek. Zauważono, że GNPs zwiększały ten efekt przyczyniając się do jeszcze niższej frakcji przeżywalności w próbach eksperymentalnych. Oznacza to, że nanocząstki maksymalizują poziom uszkodzeń doprowadzając do degradacji komórek ze zbyt rozległymi pęknięciami DNA. W komórkach MDA-MB-231 najlepszą efektywność uzyskano w próbach napromienionych z BPA z dodanymi GNPs 100 nm i GNPs 50 nm z inkubacją 24h, tak samo jak i w komórkach MCF-7. Analiza poziomu apoptozy wykazała spadek procentowej częstości komórek we wczesnej apoptozie oraz późnej apoptozie i nekrozie w próbach badawczych nienapromienionych z nanocząstkami złota i z BPA. Zauważono zmniejszenie populacji komórek późnoapoptotycznych i nekrotycznych w szczególności w próbce nienapromienionej z GNPs 50 nm z inkubacją 24h w połączeniu z BPA. W przypadku MDA-MB-231 zauważono podobną zależność po zastosowaniu GNPs 100 nm z inkubacją 24-godzinną z BPA. Otrzymane wyniki pokazują dalszą potrzebę przeprowadzenia dodatkowych

badan w celu bardziej szczegolowej analizy wplywu GNPs na komorki nowotworowe piersi typu trójjemnego i luminalnego pod kątem apoptozy.

Analiza częstości występowania mikrojąder wykazała znaczące różnice między próbami eksperymentalnymi. Synergistyczny efekt promieniowania z BPA i GNPs zwiększa częstość występowania mikrojąder, co świadczy o większym poziomie uszkodzeń genotoksycznych komórki. GNPs 100 nm z inkubacją 24h najbardziej wpływały na MN w komórkach MDA-MB-231, natomiast w MCF-7 były to GNPs 50 nm z inkubacją 4h i 24h. Test mikrojądrowy wykazał w obu liniach komórkowych zwiększony poziom błędnie naprawionych uszkodzeń DNA. Wyniki te potwierdza również analiza testu γ -H2AX, w którym po 24h był zauważalny wysoki poziom intensywności fluorescencji pochodzący z ognisk naprawczych. Promieniowanie odgrywa kluczową rolę w indukcji uszkodzeń DNA, a w połączeniu z BPA i z GNPs ten efekt ulega zwiększeniu. W komórkach MDA-MB-231 lepszy efekt uzyskano po inkubacji 24-godzinnej z GNPs 100nm, a w MCF-7 przy zastosowaniu zarówno GNPs 50 nm, jak i GNPs 100 nm z inkubacją 24h.

Terapia borowo-neutronowa jest obiecującą metodą hadronoterapii w celu leczenia nowotworów. Prowadzone badania na całym świecie umożliwiają dalszy jej rozwój, aby zwiększyć jej efektywność i dopracować każdy szczegół działania. Każde z prowadzonych badań nad źródłami promieniowania neutronowego, nowymi nośnikami ^{10}B czy też nad leczeniem różnych typów nowotworów, przybliża naukowców do uzyskania jak największej efektywności terapii. Uzyskane wyniki z przedstawionych w tej pracy badań dostarczają istotnych informacji odnośnie BNCT. Mogą one doprowadzić do rozwoju terapii borowo-neutronowej pod kątem leczenia nowotworów piersi przy dodatkowym zwiększeniu efektywności takiego leczenia. Co więcej, pokazują one złożoność procesu, który przebiega w trakcie stosowania BNCT oraz zróżnicowany jej wpływ w zależności od typu nowotworu.

29.08.2025
Niktoria Krakowiak