

Uus teadusdoktor Anne-Mari Anton Willmore

HÕBEDA NANOOSAKESED VÄHIUURINGUTES

17. novembril kaitses Anne-Mari Anton Willmore arstiteaduse filosoofiadoktori kraadi taotlemiseks esitatud väitekirja „Hõbeda nanoosakesed vähiuuringutes“ (*Silver nanoparticles for cancer research*). Doktoriväitekirja juhendajad olid professor Tambet Teesalu Tartu Ülikooli bio- ja siirdemeditiini instituudist ning Gary Braun Sanford-Burnhami California ülikooli nanomeditiini keskusest. Väitekirja oponent oli dotsent Hélder A. Santos Helsingi Ülikoolist.

Vähtkõve efektiivse ravi tagamine on tänapäeva meditsiinile jätkuvalt suur väljakutse. Kuigi nanoravimitega on viimase 20 aasta jooksul saavutatud mõningast edu vähiravi kõrvaltoimete vähendamisel, ei ole see ravimiklass osutunud loodetud imerohuks ega suurendanud patsientide elumust.

Praegu kliinilises kasutuses olevad nanoravimid kuhjuvad kasvajaalises kudedes passiivselt. Vähirakke selektiivselt ära tundvaid nanoosakesi testitakse arvukates prekliinilistes ja kliinilistes uuringutes. Vähirakke ära tundvate moodulite lisamine terapeutilistele nanoosakestele võimaldab parandada nende kuhjumist vähikoes ning seeläbi pakkuda efektiivsemat ravi ja vähendada kõrvaltoimeid.

Üks võimalus nanoosakesi suunata on kasutada *in vivo* faagidisplay meetodi abil avastatud kullerpeptiidide. Selliste peptiidide avastamiseks süstitakse vähihiiri bakteriofaagi kattevalgul kuvatud nn peptiidiraamatukogudega. Kasvajakoes ülesindatud peptiidifaagide sekveneerimine aitab seejärel tuvastada koeselektiivsed kullerpeptiidid.

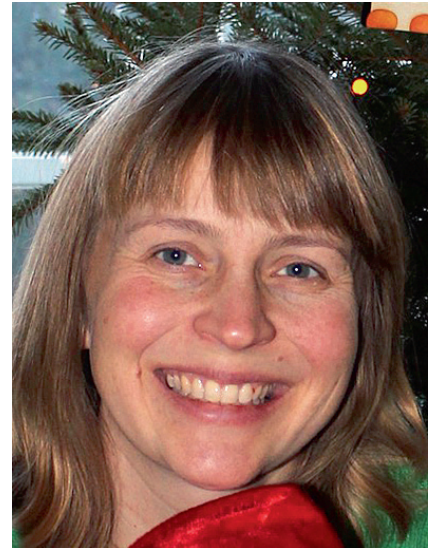
Kullerpeptiidide ja teiste nanoosakeste pinnamodifikatsioonide mõju hindamiseks oleks palju abi mudelnanoosakeste platvormist, mida on lihtne kasutada, mikroskoopiliselt uurida ja kvantifitseerida.

Kuna enamik ravimeid peab ravitoime avaldumiseks sisenema raku, võiks üks nanoosakeste platvormi kasulik omadus olla võimalus eristada intra- ja ekstratsellulaarseid osakesi. Hõbeda nanoosakestel on olemas kõik eespool soovitud omadused. Hõbeda nanoosakesed võimendavad neile kinnitatud värvainete fluorestsentsi, neil on optilisel tuvastamisel suur ekstinktsioonikoefitsient ning nendega on võimalik siduda lühikesi peptiide. Veelgi enam, hõbeda nanoosakesed lahustuvad kiiresti ja täielikult mittetoksilises metallise hõbeda söövitusalahustis ning see võimaldab rakuväliste osakeste lahustamist, mõjutamata rakusisesid osakesi.

Hõbeda nanoosakesi on võimalik valmistada hõbeda puhastest isotoopidest, võimaldamaks osakeste isotoopset tuvastamist ja kvantifitseerimist massispektromeetria abil.

Doktoritöö eesmärk oli hõbeda nanoosakeste mudelplatvormi optimeerimine vähiuuringuteks. Uuriti hõbeda nanoosakeste rakendatavust kvantifitseeritava meetodina kullerpeptiidide koeselektiivsuse ja raku sisenemise hindamiseks.

Hõbeda nanoosakesed valmistati kõrge puhtusastmega komponentidest, kasutades erinevaid sünteetisradu, saavutamaks vajaliku suuruse ja kujuga osakesi. Hõbeda nanoosakeste iseloomustamiseks kasutati nende ultraviolettkiirguses neeldumisspektri analüüsi ja transmis-



sioonelektronmikroskoopiat. Kullerpeptiididest kasutati peamiselt neuropiliin-1-ga seonduvat peptiidi aminohappejärjestusega RPARPAR. Seda peptiidi kasutati kvaliteedikontrolliks ja uute osakeste väljatöötamiseks. Lisaks kasutati P32-le suunatud kullerpeptiide. Rakukatseteks kasutati mudelina neuropiliin 1 suhtes positiivset PPC-1 eesnäarmekartsinoomi rakuliini ning neuropiliin 1 suhtes negatiivseid M21 melanoomirakke.

Ekstratsellulaarsete hõbeda nanoosakeste lahustamiseks töötati välja biosobiv söövitusalahus. Hõbeda nanoosakeste seondumise ja raku sisenemise hindamiseks kasutati epifluorestsents- ja konfokaalmikroskoopiat ning voolutsütomeetria.

Doktoriväitekirja tulemuseks oli hõbeda nanoosakeste platvormi kui mudelnanoosakeste platvormi igakülgne optimeerimine ja valideerimine uuringuteks kultiveeritud rakkudel ja kudedes. Selle platvormi rakendamine muudab võimalikuks afiinsusele suunatud nanoosakeste senisest efektiivsema väljatöötamise.