



UNIwersYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU

Katedra Patologii Klinicznej i Doświadczalnej

ROZPRAWA DOKTORSKA

mgr Sebastian Makuch

Cukrowa pochodna cynkowej ftalocyjaniny jako
innowacyjne narzędzie terapii fotodynamicznej w leczeniu
łuszczycy

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Piotr Ziółkowski

Promotor pomocniczy: dr n. med. Marta Woźniak

Wrocław, 2024

Streszczenie w języku polskim

Łuszczyca to przewlekła choroba zapalna o podłożu immunologicznym, charakteryzująca się hiperproliferacją naskórka i dotykająca około 125 milionów ludzi na całym świecie. Objawy łuszczycy, takie jak zaczerwienienie, łuszczenie się skóry i świąd, znacząco obniżają jakość życia pacjentów. Pacjenci chorzy na łuszczycę, korzystający z terapii systemowej i/lub fototerapii, często przechodzą na leczenie drugiego rzutu lub leki biologiczne z uwagi na pojawiające się skutki uboczne. Pomimo znacznych postępów w rozwoju leków biologicznych, są one kosztowne, trudno dostępne dla ogółu społeczeństwa i wymagają wielokrotnych podaży. Z racji tego potrzebne są nowo zaprojektowane związki, które zastąpią lub uzupełnią obecne terapie.

Jedną z najbardziej obiecujących metod jest terapia fotodynamiczna (PDT), która od dawna stosowana jest w leczeniu różnych chorób skóry, takich jak rógowacenie słoneczne, rak podstawnokomórkowy oraz rak kolczystokomórkowy. Niestety obecnie, skuteczność stosowanych klinicznie fotouczulaczy w leczeniu łuszczycy jest niedostateczna, a pacjenci często zgłaszają działania niepożądane, takie jak ból lub uczucie pieczenia. Pomimo obiecujących wyników badań przedklinicznych, PDT pozostaje pod kątem klinicznym niedostatecznie przebadana, co podkreśla konieczność przetestowania szerszego spektrum fotouczulaczy na pacjentach z łuszczycą.

Ftalocyjaniny, będące fotouczulaczami drugiej generacji, charakteryzują się wysokim profilem bezpieczeństwa i skuteczności, jednak ich zastosowanie ograniczają niska specyficzność tkankowa oraz słaba rozpuszczalność. W odpowiedzi na te wyzwania, w niniejszej rozprawie zaproponowano strategię glikokoniugacji ftalocyjanin, mającą na celu poprawę ich biodostępności i selektywnej akumulacji w keratynocytach charakteryzujących się nadekspresją transporterów glukozy. Proponowane jest innowacyjne podejście leczenia łuszczycy, wykorzystując fakt, iż glukoza jest niezbędnym bioenergetycznym i syntetycznym substratem dla szybko proliferujących komórek naskórka.

Na rozprawę doktorską składa się cykl 4 monotematycznych artykułów opublikowanych w międzynarodowych czasopismach naukowych uwzględnionych na liście Journal Citation Reports (JCR) oraz na wykazie czasopism naukowych Ministerstwa Edukacji i Nauki (MEiN).

W pierwszej publikacji po raz pierwszy zaproponowano strategię glikokoniugacji w kontekście potencjalnego zastosowania w leczeniu łuszczycy, mającą na celu poprawę farmakokinetyki oraz selektywności związków przeciwłuszczycowych. Kolejna praca badała wpływ cytokin prozapalnych, takich jak IL-6, IL-17, IL-23, IL-36, oraz imikwimodu, na poziom ekspresji GLUT1 w keratynocytach HaCaT. Wyniki wykazały, że stymulacja tymi czynnikami prowadzi do znacznego wzrostu ekspresji transportera glukozy typu 1 (GLUT1), co sugeruje, iż cytokiny oraz IMQ mogą odgrywać kluczową rolę w jego regulacji. W trzeciej publikacji oceniono działanie cynkowej ftalocyjaniny (ZnPc) oraz jej cukrowych pochodnych na łuszczycopodobnym modelu komórkowym oraz mysim, wykazując, iż tetra-substytuowana pochodna glukozy z zabezpieczeniami acetylowymi (Glu-4-ZnPc-P) charakteryzuje się najwyższą fototoksycznością w porównaniu do innych pochodnych. Ponadto, naświetlanie myszy po podaniu dożylnym Glu-4-ZnPc-P doprowadziło do redukcji wskaźnika PASI i ogólną poprawę kondycji skóry, co świadczy o wysokim potencjale terapeutycznym tego związku. Ostatecznie, czwarta publikacja cyklu ogranicza się do przeglądu literaturowego, w którym przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat terapii fotodynamicznej w leczeniu łuszczycy, opisano kluczowe badania przedkliniczne i kliniczne, oraz omówiono perspektywy zastosowania nanotechnologii w kontekście terapii celowanej łuszczycy.

Podsumowując, strategia przyłączenia cukrów do fotouczulaczy wykazuje wysoki potencjał w kontekście celowanej terapii fotodynamicznej łuszczycy. Opisane w niniejszej rozprawie wyniki mogą stanowić solidną podstawę dla przyszłych badań klinicznych nad zastosowaniem koniugatów glukozy w leczeniu łuszczycy oraz innych chorób skóry. Niemniej jednak, konieczne są dalsze badania przedkliniczne w celu pełnego zrozumienia mechanizmów działania tych związków.

Streszczenie w języku angielskim

Psoriasis is a chronic immune-mediated inflammatory disease, characterized by hyperproliferation of the epidermis, and affecting approximately 125 million people worldwide. Symptoms such as redness, skin peeling, and itching significantly reduce the quality of life of patients. Psoriatic patients receiving systemic therapy and/or phototherapy often switch to second-line treatments or biologics due to side effects. Despite significant progress in the development of biological therapies, these treatments are costly, hardly accessible, and require multiple administrations. Therefore, newly designed compounds are necessary to either replace or complement current therapies.

Photodynamic therapy (PDT) has been a reliable treatment option for various skin diseases such as actinic keratosis, basal cell carcinoma, and squamous cell carcinoma over the past few years. Unfortunately, the efficacy of clinically used photosensitizers in the treatment of psoriasis is inadequate, with patients often reporting side effects such as pain and burning sensations. Despite promising preclinical findings, PDT remains underutilized in clinical settings, for psoriasis, highlighting the need to test a broader spectrum of photosensitizers on patients.

Despite their high safety and efficacy profiles, phthalocyanines, which are second-generation photosensitizers, face several limitations, mostly because of poor tissue specificity and low solubility. In response to these challenges, this dissertation proposes a strategy of glycoconjugation of phthalocyanines in order to improve their bioavailability and selective accumulation in keratinocytes, which are characterized by the overexpression of glucose transporters on their surface. The proposed approach leverages the fact that glucose is a vital bioenergetic and synthetic substrate for rapidly proliferating epidermal cells.

The doctoral dissertation consists of a collection of four thematically-related articles published in international scientific journals included in the Journal Citation Reports (JCR) list and the Polish Ministry of Education and Science (MEiN) registry.

The first publication described for the first time the strategy of glycoconjugation with potential applications in psoriasis treatment, which attempts to improve the pharmacokinetics and selectivity of antipsoriatic drugs. The second study examined the effect of pro-inflammatory cytokines such as IL-6, IL-17, IL-23, IL-36, and imiquimod on GLUT1 expression in HaCaT keratinocytes. The findings revealed that stimulation by these factors causes a considerable increase in GLUT1 expression, suggesting that cytokines and IMQ may play a key role in

regulating this transporter. The third publication evaluated the activity of zinc phthalocyanine (ZnPc) and its sugar derivatives on a psoriasis-like *in vitro* and *in vivo* model, demonstrating that the acetyl-protected, tetra-substituted glucose derivative (Glu-4-ZnPc-P) exhibited the highest photocytotoxicity compared to other derivatives. Furthermore, the irradiation of mice following intravenous administration of Glu-4-ZnPc-P resulted in a reduction of the PASI index and an overall improvement of the condition of the skin, indicating the therapeutic potential of this compound. Finally, the fourth article is a literature that outlines the current state of knowledge about photodynamic therapy in the treatment of psoriasis by highlighting preclinical and clinical studies, and exploring the potential of nanotechnology in targeted therapies for psoriasis.

In summary, the strategy of conjugating sugars to photosensitizers bears the potential to revolutionize current targeted treatments for psoriasis. The results presented in this dissertation could serve as a strong foundation for future clinical trials exploring the use of glucose conjugates in treating psoriasis and other skin diseases. However, further preclinical studies are needed to fully understand the mechanisms of action of these compounds.