# Streszczenie

Nadekspresja receptora HER2 występuje w wielu typach nowotworów i wiąże się z wysoką agresywnością. Rozwój leków ukierunkowanych na HER2 znacząco poprawił całkowite przeżycie pacjentów. Jednak, niezależnie od początkowej obiecującej odpowiedzi na leczenie, w wielu przypadkach obserwuje się nabywanie przez komórki nowotworowe oporności na stosowane leki. Dlatego proponujemy wykorzystanie fotoimmunoterapii (PIT) jako nowej strategii terapeutycznej. Celem pracy było zbadanie skuteczności PIT opartej o koniugat Affibody ukierunkowany na komórki charakteryzujące się nadekspresją receptora dla naskórkowego czynnika wzrostu HER2.

Cząsteczki Affibody specyficznie wiążące się do zewnątrzkomórkowej domeny receptora (AffiHER2) skoniugowano z fotouczulaczem IR700. Swoistość wiązania koniugatu potwierdzono za pomocą fluorescencyjnej cytometrii przepływowej (FFC) i mikroskopii konfokalnej przy użyciu panelu linii komórek nowotworowych różniących się ekspresją HER2. Skuteczność terapeutyczną AffiHER2-IR700 (PIT, 16 J/cm2) badano na modelu komórek adherentnych (2D) i sferoidach (3D) oceniając przeżywalność komórek testem CellTiter-Glo oraz Live/Dead. Stres oksydacyjny analizowano przy pomocy testów DCFDA oraz SOSGR. Rodzaj indukowanej śmierci komórkowej zbadano metodą podwójnego barwienia (aneksyna V/PI). Markery immunogennej śmierci komórkowej (kalretikulinę, HMGB1, ATP, białka HSP) mierzono za pomocą FFC, Western blot, Enliten oraz Elisa. Badanie potwierdzające słuszność koncepcji przeprowadzono na podskórnych ksenoprzeszczepach HER2-pozytywnych *in vivo* (PIT, 100 J/cm2).

Wiązanie AffiHER2-IR700 do komórek, korelowało z poziomem ekspresji HER2. Badania fototoksyczności *in vitro* wykazały znaczny spadek żywotności komórek w sposób zależny od dawki. W przypadku PIT sfer 3D obserwowano obrzęk i uwolnienie zawartości komórkowej wkrótce po naświetleniu, co wskazywało na nekrozę komórek. Generowanie RFT, wyzwoliło immunogenną śmierć komórki prowadząc do uwolnienia ATP, białek HMGB1, HSP70/90 oraz translokację kalretikuliny na błonę komórkową. Badania *in vivo* potwierdziły, że koniugat specyficznie akumuluje się w nowotworach HER2-pozytywnych. Ponadto, PIT zastosowana *in vivo* prowadziła do znaczącego zahamowanie wzrostu nowotworu w grupie myszy leczonych, w porównaniu do grupy kontrolnej.

Koniugat AffiHER2-IR700 wykazał skuteczność terapeutyczną w liniach komórkowych i sferoidach HER2-pozytywnych. Badania *in vivo* dowodzą, że koniugat ma charakter teranostyczny. Może być wykorzystany zarówno w obrazowaniu jak i we wspomaganiu terapii nowotworów z nadekspresją receptora HER2.