

30 kwietnia 2024 r.

## **Naukowcy UMW współtwórcami nowatorskiego generatora do elektroporacji**

**Nowy nanosekundowy generator ultrakrótkich impulsów z kontrolowanym kształtem, w tym impulsów asymetrycznych, powstał na UMW w ramach projektu badawczego realizowanego w partnerstwie z Wileńskim Uniwersytetem Technicznym im. Giedymina. Urządzenie służy do manipulacji różnymi procesami komórkowymi. Jednym z zastosowań może być przełamanie oporności lekowej w komórkach nowotworowych, co przekłada się na skuteczniejsze ich niszczenie.**

Projekt, w części polskiej finansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki, trwał trzy lata i zakończy się w czerwcu br. W jego efekcie powstało ponad 20 publikacji naukowych, a ostatecznym rezultatem jest opracowanie urządzenia o nowych możliwościach manipulacji procesów komórkowych. Kierownikiem projektu ze strony polskiej jest dr hab. Julita Kulbacka, prof. UMW, szefowa Katedry i Zakładu Biologii Molekularnej i Komórkowej Wydziału Farmaceutycznego UMW. W zespole naukowców znalazły się dr Anna Szewczyk, dr inż. Nina Rembiałkowska, dr Dagmara Baczyńska, doktorantka Zofia Łapińska z tej jednostki oraz lek. Wojciech Szlasa.

– Nasz generator pozwoli na badanie nowych zjawisk w dziedzinie elektroporacji w wielu parametrach – tłumaczy prof. Julita Kulbacka. – Jego unikatowość polega właśnie na możliwości takich badań przy większej liczbie zmiennych niż dotychczas. Przede wszystkim chodzi o długość i kształt impulsów elektrycznych, częstotliwość oraz ich przemiennosc. Nasze urządzenie pozwala wykorzystywać szerokie ich spektrum: od pojedynczych nanosekund do pojedynczych mikrosekund, również w zakresie częstotliwości megahercowych.

Sam pomysł podjęcia tego tematu wynika z wcześniejszych wieloletnich zainteresowań badawczych naukowców Katedry i Zakładu Biologii Molekularnej i Komórkowej UMW. Jest kontynuacją doświadczeń związanych z elektroporacją, która przyniosła nowe możliwości m.in. leczenia chorób onkologicznych opornych na farmakoterapię. Niszczyć komórki nowotworowe bez leków, a jedynie samym impulsem elektrycznym? Nie jest to takie proste, ale kierunek jest obiecujący.

– Elektroporacja jest obecnie techniką powszechnie stosowaną w medycynie, biologii, a także przetwórstwie żywności, głównie do utrwalania świeżości produktów bez utraty ich właściwości odżywczych – mówi prof. Julita Kulbacka. – Jej początki sięgają lat 60. i wiążą się z odkryciami niemieckiego matematyka i biochemika prof. Eberharda Neumanna (co ciekawe, urodzonego we Wrocławiu), który jako pierwszy zastosował pole elektryczne do transfekcji genów. Od lat 90. intensywnie rozwija ten kierunek w kontekście genoterapii i terapii przeciwnowotworowych. Udowodniono m.in. potencjał techniki nanosekundowego impulsowego pola elektrycznego (nsPEF) w terapii czerniaka i nowotworów przewodu pokarmowego. Jest to metoda „czysto elektryczna”, która przy większych natężeniach pola elektrycznego nie wymaga stosowania dodatkowych leków. Impulsy

---

elektryczne o odpowiednich parametrach uszkadzają błonę komórki nowotworowej i powodują jej selektywną degradację. Jednocześnie nie dochodzi do zniszczenia zdrowych komórek.

### **Zastosowanie kliniczne w USK**

Elektroporacja, zwłaszcza ta wykorzystująca dłuższe unipolarne impulsy (mikro-, milisekundowe) znajduje od dawna zastosowanie kliniczne jako elektrochemioterapia. Wykorzystuje się ją np. w tych nowotworach, które mają charakter nieoperacyjny i na które nie działają standardowe protokoły chemioterapii. Przykładem jest rak trzustki, który pozostaje ogromnym wyzwaniem dla klinicystów, bo często jest nieoperacyjny ze względu na położenie anatomiczne i równoczesną oporność lekową. Impulsy elektryczne w leczeniu raka trzustki wykorzystuje się także w Uniwersyteckim Szpitalu Klinicznym we Wrocławiu (USK) w ramach ogólnopolskiego projektu finansowanego ze środków Agencji Badań Medycznych (ABM), dotyczącego „wpływu nieodwracalnej elektroporacji wapniowej, elektrochemioterapii oraz elektroporacji (IRE-CaCl<sub>2</sub>, ECT oraz IRE) na jakość życia oraz przeżycie wolne od progresji u chorych na raka trzustki”. Realizuje go zespół II Katedry i Kliniki Chirurgii Ogólnej i Chirurgii Onkologicznej UMW pod kierownictwem prof. Wojciecha Kielana i dr hab. Julii Rudno-Rudzińskiej. Zabieg, wykonywany za pomocą NanoKnife, polega na wytworzeniu trwałej reorganizacji błon lipidowych w komórkach nowotworowych za pomocą serii mikrosekundowych impulsów elektrycznych. Powstałe w ten sposób „nanopory” powodują utratę homeostazy, a następnie śmierć komórki. Impulsy elektryczne są aplikowane w tkance specjalnymi elektrodami igłowymi. Dodatkowo aby zintensyfikować ten proces, wykorzystuje się chlorek wapnia, aby zaburzyć homeostazę wapniową komórek eksponowanych na pole elektryczne. Zabieg odbywa się pod kontrolą USG śródoperacyjnego lub przezskórnie pod kontrolą tomografii komputerowej. W wyniku zastosowania odpowiedniego napięcia, komórki nowotworowe zostają nieodwracalnie uszkodzone i obumierają. Jednocześnie naczynia krwionośne i nerwy w rejonie uszkodzonych przez NanoKnife komórek nowotworowych zachowują swoją żywotność, co czyni z tej metody często jedyną perspektywę terapii w miejscach trudnych do leczenia chirurgicznego. Efektywność działania NanoKnife w różnych typach nowotworów, potwierdzono również badaniami in vitro na prototypach generatorów impulsowych, prowadzonymi w Katedrze i Zakładzie Biologii Molekularnej i Komórkowej UMW.

### **AnsPEF na modelu komórek nowotworowych**

Prof. Julita Kulbacka podkreśla jednak, że impuls impulsowi nierówny i nie zawsze chodzi o nieodwracalne zniszczenie komórek nowotworowych, jak to jest w przypadku metody NanoKnife w raku trzustki. W przypadku wzmocnienia działania chemioterapeutyku celem jest elektroporacja odwracalna, podczas której dochodzi do tymczasowego rozszczelnienia błony komórkowej tylko na moment podania leku. Po aplikacji błona się ponownie zamyka, a środek leczniczy zaczyna działać w zwiększonym stężeniu wewnątrz komórki. Ma to kluczowe znaczenie w sytuacjach, gdy lek nie jest w stanie sam przedostać się przez błonę komórkową lub proces ten zachodzi mało efektywnie. Generator, opracowany przez wrocławskich i litewskich naukowców, ma szerokie możliwości w stosowaniu różnego rodzaju impulsów, łącznie z impulsami asymetrycznymi (AnsPEF)

– Mechanizmy wywołane AnsPEF nie zostały wcześniej zbadane – dodaje kierownik projektu. – Naszym celem jest poznanie mechanizmów działania metody AnsPEF na modelu komórek nowotworowych. Do tej pory nie było kompleksowej wiedzy na temat skuteczności impulsów asymetrycznych. Rezultatem

naszego projektu jest nowatorska platforma do elektroporacji, umożliwiająca generowanie asymetrycznych impulsów nanosekundowych w celu poprawy transportu cząsteczek leków i genów do komórek. Pozyskaliśmy dane systemowe dotyczące nowych protokołów elektroporacji, w tym porównanie z konwencjonalnymi uni- i bipolarnymi impulsami nanosekundowymi oraz procedurami ESOPE. Opracowaliśmy także zalecenia dotyczące przyszłych badań na podstawie wyników i zjawisk wykrytych w nowym zakresie elektroporacji wieloparametrycznej. Projekt zakładał badania in vitro i te mamy już za sobą. W najbliższej przyszłości planujemy kontynuację tematu i badania na modelu in vivo, ale to już w ramach kolejnych projektów.

Czy terapia prądem może w przyszłości zastąpić inne metody leczenia nowotworów, w tym uciążliwą dla pacjentów i nie zawsze skuteczną chemioterapię? Zdaniem prof. Julity Kulbackiej nie jest to możliwe w każdym typie nowotworu.

– Nie da się poddać tej metodzie np. pacjentów z przerzutami rozsianymi. Ograniczeń jest więcej, ale z całą pewnością odkrywanie kolejnych możliwości terapeutycznych elektroporacji jest wciąż przed nami.

Projekt „Manipulacja oporności lekowej w komórkach nowotworowych poprzez nanosekundowe, asymetryczne sekwencje impulsów” realizowany przez badaczy Katedry i Zakładu Biologii Molekularnej i Komórkowej Wydziału Farmaceutycznego UMW został dofinansowany przez NCN kwotą ponad 1 mln zł.

Fot. Tomasz Modrzejewski/UMW