

12. Streszczenie pracy doktorskiej w języku polskim

Tytuł pracy doktorskiej: „Przełamywanie oporności wielolekowej nowotworów na poziomie genomu: opracowanie metody zapobiegającej nadekspresji transporterów ABC w komórkach nowotworowych opartej na inhibitorach enzymów remodelujących chromatynę”

Pomimo wieloletnich badań oraz wysiłków naukowców, mających na celu rozwój nowatorskich terapii, nowotwory stanowią nadal drugą najczęstszą przyczynę zgonów w Polsce, a chemioterapia jest najczęściej stosowaną metodą leczenia. U niemal połowy pacjentek z potrójnie ujemnym rakiem piersi następuje nawrót choroby po leczeniu tego typu terapią. Zjawisko to spowodowane jest nabyciem oporności wielolekowej (z ang. multidrug resistance – MDR) w efekcie działania czynników stresowych, takich jak hipoksja, radio- oraz chemioterapia. Komórki z MDR charakteryzują się spadkiem wrażliwości na działanie cytostatyków poprzez, między innymi, nadekspresję transporterów ABC oraz polinukleację. W jednej z poprzednich prac naszego zespołu zostało wykazane, że wyindukowanie oporności na cisplatynę w linii komórkowej A549 oraz MDA-MB-231 prowadziło do pojawienia się acetylotransferazy p300 na promotorze genu *ABCC10*. Z tego względu w pierwszej części pracy opisany został wpływ inhibitora bromodomeny CBP/p300 – I-CBP112 na obniżenie ekspresji transporterów ABC w liniach bazowych oraz istotnych z punktu widzenia klinicznego, wyindukowanych liniach opornych MDA-MB-231 oraz A549. Ponadto zweryfikowany został profil bezpieczeństwa badanego związku względem linii prawidłowych oraz zdolność I-CBP112 do indukowania oraz nasilania poli(aneu)ploidii, która należy do mechanizmów oporności komórek nowotworowych. Uzupełnieniem do niniejszych eksperymentów było przygotowanie dwóch prac przeglądowych dotyczących zjawiska polinukleacji w nowotworach, a także porównania właściwości farmakokinetycznych, parametrów ADMET oraz celów pobocznych komercyjnie dostępnych inhibitorów CBP/p300 różniących się mechanizmem działania. Mając na uwadze fakt, że białko PARP1 jest koregulatorem działania CBP/p300 w drugiej części pracy skupiłam swoją uwagę na wpływie kompleksu PARP1/HPF1 na regulację ekspresji transporterów ABC, a także identyfikacji czynnika transkrypcyjnego odpowiedzialnego za PARP1-zależną transkrypcję genów *ABCC3*, *ABCC4* i *ABCC5*.

W niniejszej pracy przedstawione zostały wyniki z dwóch opublikowanych prac eksperymentalnych, które jednoznacznie wskazują na istotny wpływ inhibitora bromodomeny I-CBP112 na przełamywanie oporności wielolekowej linii bazowych oraz opornych MDA-MB-231 i A549. I-CBP112 uwrażliwia komórki poprzez obniżenie ekspresji transporterów ABC, zwiększenie akumulacji leków przeciwnowotworowych, co w konsekwencji prowadzi do obniżenia IC50 wybranych cytostatyków. Co więcej, badany inhibitor bromodomeny CBP/p300 posiada pożądane

właściwości ADMET, nie wykazuje toksyczności względem linii prawidłowych, a także nie indukuje procesu polinukleacji. Udało mi się również wykazać, że I-CBP112 działa na tej samej ścieżce regulacyjnej co powszechnie stosowany inhibitor pan-ABCC, a jego działanie jest zależne od demetylasy LSD1.

W drugiej części pracy wykazałam istotną rolę białka PARP1 w regulowaniu transkrypcji genów ABC. Zastosowania inhibitorów PARP oraz wyciszeniu składowych kompleksu PARP1/HPF1 powodowało obniżenie ekspresji istotnych dla oporności genów i nasiliło akumulowanie wybranych cytostatyków w kulturach 2D oraz w sferoidach. Co istotne, sama aktywność PARP1 była większa w linii odpornej na dokсорubicynę, co mogło wynikać z większej tolerancji komórek opornych na działanie czynników uszkodzających DNA, a także zwiększonego poziomu modyfikacji potranslacyjnych tego białka takich jak metylacja, acetylacja oraz fosforylacja. Etap identyfikacji czynnika transkrypcyjnego odpowiedzialnego za PARP1-zależną ekspresję transporterów ABCC3 i ABCC4 wyłonił SMARCA1 jako potencjalnego kandydata do dalszych badań. Jego istotny wpływ na wyindukowaną dokсорubicyną oporność komórek został potwierdzony poprzez spadek ekspresji wybranych ABCC w komórkach z deficytem SMARCA1, któremu towarzyszył wzrost akumulowania wybranych leków przeciwnowotworowych i nasilenie ich cytotoksyczności.

Mając na uwadze uzyskane w pierwszej części pracy wyniki mogę stwierdzić, że inhibitor p300/CBP - I-CBP112 jest atrakcyjnym kandydatem uzupełniającym standardową chemioterapię, ponieważ wpływa na zwiększenie jej skuteczności w liniach z wygenerowaną opornością wielolekową. Co więcej, nie jest toksyczny względem komórek prawidłowych, posiada pożądany profil ADMET, a także nie indukuje powstawania komórek poli(aneu)ploidalnych. PARP1 jest kofaktorem p300, działającym w regionach regulatorowych niektórych genów ABC, a mediatorem aktywności tego enzymu jest SMARCA1, który wchodzi w fizyczną interakcję z PARP1, HPF1 i p300.

Strachowska
Chogolewa