

## Streszczenie

Choroby nowotworowe stanowią problem globalny. Jedną z głównych cech komórek nowotworowych jest niekontrolowana proliferacja, dlatego też nowotwory ze względu na występujące w nich aberracje nazywane są często „chorobami cyklu komórkowego”. Cykl komórkowy regulowany jest przez szereg białek oraz punktów kontrolnych mających za zadanie monitorowanie przebiegu poszczególnych faz cyklu komórkowego oraz decydujących o warunkowym przejściu do kolejnych jego etapów. Do głównych regulatorów cyklu komórkowego należą cykliny i kinazy cyklinozależne (CDKs). Deregulacja ekspresji białek cyklu podziałowego staje się obecnie przedmiotem intensywnych badań, ponieważ zaburzenia w ich ekspresji i regulacji mogą przyczyniać się do procesu kancerogenezy. Cyklina Y zdefiniowana została jako białko, które może łączyć ze sobą przebieg cyklu komórkowego z procesem transkrypcji, ale także jako regulator szlaku sygnałowego Wnt. Wykazano, że obecność cykliny Y w kompleksie z CDK14 wpływa na promowanie niekanonicznej ścieżki szlaku Wnt, poprzez wzmożenie ekspresji białek będących substratami opisywanego szlaku. Ponadto ekspresja cykliny Y odgrywa ważną rolę w procesach nowotworzenia. Niedrobnokomórkowy rak płuca wykazuje nadekspresję cykliny Y, a ekspresja cykliny Y dodatnio koreluje z podtypami histologicznymi NDRP (tj. rak płaskonabłonkowy i gruczolakorak), a także z wielkością guza. Natomiast spadek ekspresji cykliny Y w linii NDRP prowadzi do zahamowania proliferacji komórek nowotworowych.

W niniejszej rozprawie doktorskiej materiał badawczy stanowiły linie niedrobnokomórkowego raka płuca A549 posiadająca aktywne białko p53 oraz linia H1299, która pozbawiona jest aktywnego białka p53. Obie linie komórkowe poddano działaniu cisplatyny w stężeniu 10 i 30  $\mu\text{M}$  oraz ikarytyny w stężeniu 30 i 60  $\mu\text{M}$ , a po traktowaniu powyższymi związkami zbadano ekspresję cykliny Y. Ocenie poddano również zmiany w morfologii komórek, cyklu komórkowym, a także potencjał migracyjny komórek oraz rodzaj indukowanej śmierci. Ze względu na nieprzewidziane wcześniej wyniki po traktowaniu komórek ikarytyną, związane z formowaniem się kryształów, wykonano ich szczegółową analizę z zastosowaniem mikroskopu polaryzacyjnego oraz kontrastowo-fazowego.

Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że komórki linii A549 oraz H1299, wykazywały wrażliwość na cisplatynę i ikarytynę. Wraz ze wzrostem stężenia związków oraz

wydłużeniem czasu inkubacji ilość komórek uległa obniżeniu, co może mieć związek z zatrzymaniem cyklu komórkowego oraz indukcją śmierci komórek obu linii. Wykazano, że cisplatyne wpływała na zwiększenie odsetka komórek obu linii w fazie G2/M cyklu komórkowego. Natomiast ocena rodzajów śmierci komórki dostarczyła informacji, że ikarytyna indukowała śmierć komórek obu linii na drodze apoptozy. W przypadku cisplatyne tylko w linii H1299 wykazano istotny statystycznie wzrost odsetka komórek późno-apoptotycznych. Ponadto, ocena potencjału migracyjnego komórek wykazała, że oba związki wpływały na zmniejszenie ilości tworzonych kolonii oraz migracji komórek obu linii. Natomiast ikarytyna powodowała obniżenie tempa migracji komórek linii A549 oraz H1299. W powyższych badaniach wykazano również, że wzrost ekspresji cykliny Y zależy od czasu inkubacji, a także rodzaju oraz dawki zastosowanego związku. Wzrost ekspresji cykliny Y korelował ze zmniejszeniem proliferacji, ilości tworzonych kolonii, migracji, a także tempa migracji komórek linii A549 oraz H1299 po zastosowaniu związków cytotoksycznych.

Na podstawie badań dodatkowych wykazano wewnątrzkomórkowe tworzenie się kryształów ikarytyny. Ikarytyna to związek, który jest już w trakcie trzeciego etapu badań klinicznych. Przedstawione wyniki sugerują potencjalne zagrożenie stosowania tego związku w terapii nowotworowej, ze względu na efekt uboczny w postaci formowania się kryształów.

Podsumowując, uzyskane w trakcie realizacji niniejszej rozprawy doktorskiej wyniki wykazały, że poziom ekspresji cykliny Y wzrasta po zastosowaniu czynników indukujących śmierć komórki. Ekspresja badanego białka wzrastała wraz ze zwiększeniem dawek cisplatyne oraz ikarytyny, a także z dłuższym czasem inkubacji ze związkami. Wzrost ekspresji cykliny Y korelował z zatrzymaniem cyklu komórkowego, wzrostem odsetka komórek apoptotycznych, a także z hamowaniem potencjału migracyjnego komórek obu linii. Wyniki badań dodatkowych, w których oceniono powstawanie kryształów sugerują, że ikarytyna może stanowić potencjalne zagrożenie w leczeniu onkologicznym. Na podstawie przedstawionych wyników, za zasadne uznaje się, że dokładne poznanie mechanizmów działania białek cyklu komórkowego jest istotne w aspekcie ich znaczenia w prewencji, diagnostyce i leczeniu chorób nowotworowych.