

Tytuł: Rola białka P53 w regulacji stanu oksydoredukcyjnego w komórkach nowotworowych.

Słowa kluczowe: białko P53, warunki oksydoredukcyjne, reaktywne formy tlenu, anionorodnik ponadtlenkowy, mitochondria.

Wiele aspektów funkcjonowania komórek nowotworowych zależy od warunków oksydoredukcyjnych. Kontrolują one wzrost komórek nowotworowych, ich metabolizm, migrację, inwazyjność czy unaczynienie guza. Rola stanu oksydoredukcyjnego w regulacji tych procesów mimo że znana jest trudna do zrozumienia, ponieważ te same ścieżki sygnałowe i mechanizmy często prowadzą do różnych, często przeciwstawnych odpowiedzi na poziomie komórkowym.

Białko P53 dwójako reguluje równowagę oksydoredukcyjną w komórkach i może funkcjonować zarówno jako antyoksydant jak i prooksydant. Jednocześnie jest najczęściej ulegającym mutacji białkiem identyfikowanym w ludzkich komórkach nowotworowych i posiada potwierdzony związek z opornością nowotworów jelita grubego na chemioterapię, której mechanizm działania oparty jest na indukowaniu śmierci komórki poprzez zaburzenie równowagi oksydoredukcyjnej.

Aby osiągnąć maksymalną efektywność terapii i ograniczyć zjawisko oporności wskazane jest lepsze poznanie sieci zależności która odpowiada za P53-zależną regulację warunków oksydoredukcyjnych w komórkach nowotworowych zarówno w warunkach normalnego funkcjonowania komórek jak i w warunkach stresu oksydacyjnego.

Celem pracy było zbadanie w jaki sposób białko P53 reguluje produkcję reaktywnych form tlenu i aktywność antyoksydacyjną w komórkach ludzkiego nowotworu jelita grubego *in vitro*.

Przeprowadzone badania potwierdziły, że białko P53 pełni w komórkach ludzkiego nowotworu jelita grubego linii HCT116 i RKO funkcję antyoksydacyjną, a obniżenie jego poziomu prowadzi do stresu oksydacyjnego oraz zwiększenia liczby uszkodzeń oksydacyjnych. Ponieważ wykorzystany układ eksperymentalny nie zawierał zewnętrznych

źródeł indukujących stres (w tym stres oksydacyjny) potwierdza to, że zmiana statusu białka P53 może być endogennym źródłem stresu.

Wyniki badań wstępnych wykazały, że dotychczas opisane w literaturze mechanizmy odpowiadające za antyoksydacyjną funkcję P53 (na przykład regulacja czynnika TFAM i NRF2) nie są odpowiedzialne za P53-zależne zmiany warunków oksydoredukcyjnych w komórkach HCT116 i RKO co wskazuje na istnienie innego mechanizmu regulacji.

Przeprowadzone badania umożliwiły zidentyfikowanie nowego mechanizmu odpowiadającego za antyoksydacyjną rolę białka P53 w komórkach nowotworu jelita grubego *in vitro*. W warunkach kontrolnych (to jest przy braku czynników zewnętrznych indukujących stres oksydacyjny) białko P53 reguluje ekspresję genu *FOXO1* będącego istotnym czynnikiem transkrypcyjnym odpowiedzialnym za regulację ekspresji wielu genów związanych z aktywnością antyoksydacyjną. Obniżenie poziomu białka P53 prowadzi do zmniejszenia ekspresji FOXO1 na poziomie mRNA i białka, co z kolei powoduje obniżenie ekspresji genów regulowanych przez ten czynnik transkrypcyjny, kodujących białka związane z regulacją warunków oksydacyjnych: dysmutazy ponadtlenkowej 1 i 2, peroksyredoksyny 3, tioredoksyny 2 oraz selenoproteiny P i wzrostu poziomu reaktywnych form tlenu. Mediatorami regulacji FOXO1 przez P53 są mikro-RNA miR135b i miR222. Przedstawienie nowego mechanizmu P53-zależnej regulacji warunków oksydoredukcyjnych przyczynia się do rozwoju dyscypliny i poszerzenia wiedzy o procesach zachodzących w komórkach nowotworowych. Jest to istotne szczególnie z punktu widzenia badań nad chemoopornością.

W pracy udowodniono również, że białko P53 reguluje produkcję anionorodnika ponadtlenkowego i funkcjonowanie mitochondriów w komórkach nowotworu jelita grubego. Obniżenie poziomu białka P53 w komórkach linii HCT116 i RKO zaburza aktywność mitochondriów i proces oddychania zmuszając komórki do wykorzystania glikolizy w celu pozyskania energii, czemu towarzyszy zmniejszenie produkcji anionorodnika ponadtlenkowego. Poziom P53 jest więc kluczowy dla aktywności łańcucha oddechowego i towarzyszącej jej produkcji reaktywnych form tlenu. Zaburzenie funkcjonowania łańcucha oddechowego może być związane z obniżeniem zawartości kardiolipiny (fosfolipidu stabilizującego kompleksy łańcucha oddechowego) w błonie mitochondrialnej.

Przedstawiona rozprawa doktorska opisuje mechanizmy regulacji równowagi oksydoredukcyjnej i funkcjonowania mitochondriów w komórkach nowotworu jelita grubego, prezentując istotne ścieżki sygnałowe zależne od białka P53.