

**Słowa kluczowe: receptor HER2, rak piersi, HER2-dodatni rak piersi, trastuzumab, kompleks remodelujący chromatynę SWI/SNF,**

Receptor HER2 jest receptorem o aktywności kinazy tyrozynowej należącym do rodziny receptorów naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR) kodowanym przez gen *ERBB2* zlokalizowany na długim ramieniu chromosomu 17 (17q21.2) i składa się z 3 domen: domeny zewnętrzkomórkowej,  $\alpha$ -helikalnej części przezbłonowej oraz wewnętrzkomórkowej domeny- kinazy tyrozynowej, odpowiedzialnej za fosforylację tyrozyny w białkach docelowych. Jego nadmierna ekspresja występuje w około 15-20% przypadków chorych na raka piersi i związana jest z gorszym rokowaniem. Receptor HER2 na komórkach raka stanowi doskonały cel dla przeciwciał anti-HER2, z których pierwszym stosowanym w codziennej praktyce klinicznej był trastuzumab. Jego skuteczność udowodniono zarówno w leczeniu uogólnionego, jak i wczesnego raka piersi z nadekspresją receptora HER2 lub amplifikacją genu *HER2*. Niestety u większości chorych z HER2-dodatnim rakiem piersi obserwuje się pierwotną lub wtórną oporność na trastuzumab. Wiele lat temu zaobserwowano, że poza występowaniem receptora HER2 na błonie komórkowej obserwuje się także jego obecność w jądrze komórkowym, gdzie pełni rolę czynnika regulującego transkrypcję.

Celem pracy doktorskiej było: poznanie jądrowej funkcji receptora HER2 oraz jego wpływ na oporność na leczenie trastuzumabem, a w szczególności:

1. Poznanie białek jądrowych oddziałujących z HER2.
2. Określenie czy białko HER2 może bezpośrednio wiązać się do chromatyny w obrębie loci *BRCA1* i *FBP1*.
3. Sprawdzenie czy zahamowanie szlaku HER2 przez trastuzumab wpływa na ekspresję genów zaangażowanych w istotne procesy regulacyjne.
4. Analiza wpływu oporności na trastuzumab na regulację ekspresji genów.

W tym celu wykonano wiele eksperymentów m.in. barwienie i ocenę preparatów histopatologicznych, hodowlę linii komórkowych i wyprowadzenie linii SK-BR-3 odpornej na trastuzumab, a następnie przeprowadzono: frakcjonowanie kompartmentów komórkowych, izolację całkowitego RNA, odwrotną transkrypcję, Western blot, PCR w czasie rzeczywistym (qRT-PCR), współ-precypitację białek, immunoprecypitację chromatyny i analizę qPCR. Dokonano także analizy mikromacierzy oraz analizy statystyczne.

Zaobserwowano, że w materiale histopatologicznym od pacjentek z HER2-dodatnim rakiem piersi występuje też barwienie jądrowe receptora HER2. Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń i analiz wykazano, że receptor HER2 znajduje się w jądrze komórkowym i oddziałuje w nim z wieloma białkami zaangażowanymi w różne procesy regulacyjne m. in. z podjednostkami kompleksu remodelującego chromatynę typu SWI/SNF, z którym wiąże się bezpośrednio do DNA w obrębie *loci* genów *FBP1* i *BRCA1*. Ponadto udowodniono, że traktowanie komórek linii SK-BR-3 trastuzumabem powoduje zmianę ekspresji genów kodujących niektóre enzymy glikolizy oraz wpływa na ekspresję genów kodujących podjednostki kompleksu remodelującego chromatynę typu SWI/SNF. W komórkach raka piersi HER2-dodatniego opornych na trastuzumab obserwuje się zaburzenia ekspresji genów związanych z metabolizmem lipidów oraz zaburzenie aktywności głównego miernika metabolizmu- kinazy AMPK.

#### **Wnioski:**

1. HER2 występuje nie tylko we frakcji cytoplazmatycznej, ale również w jądrze komórkowym w linii HER2-dodatniego raka piersi. Jest również obecny w materiale od pacjentek.
2. HER2 oddziałuje w jądrze komórkowym z kompleksem remodelującym chromatynę typu SWI/SNF.
3. HER2 wiąże się do DNA w obrębie genów *FBP1* i *BRCA1* w miejscach wiązanych przez kompleks SWI/SNF.
4. Traktowanie komórek wrażliwych trastuzumabem powoduje zmiany ekspresji genów, których produkty są zaangażowane w metabolizm glukozy oraz genów kodujących podjednostki kompleksu SWI/SNF.
5. W komórkach HER2 pozytywnego raka piersi następuje zmiana ekspresji genów związanych z metabolizmem witaminy A oraz lipidów.
6. W komórkach opornych na trastuzumab obserwuje się spadek aktywności kinazy AMPK- głównego miernika metabolizmu w komórkach.
7. Moduł SWI/SNF-AMPK- HER2 może wpływać na rozwój oporności na trastuzumab poprzez regulację ekspresji genów, których produkty są zaangażowane w metabolizm, co w konsekwencji prowadzi do przeprogramowania metabolicznego w komórkach opornych vs wrażliwe.