

Słowa kluczowe: rak jajnika, terapie raka jajnika, badania kliniczne, terapie celowane molekularnie, *ITGBL1*, *TIED*, migracja, inwazja, adhezja, proliferacja, chemiooporność, genomika funkcjonalna, profil ekspresji genów, szlaki sygnałowe

Rak jajnika jest piątą wiodącą przyczyną zgonów z powodu nowotworów u kobiet w Europie i Ameryce Północnej (piątą w Polsce). Przyczyną wysokiej śmiertelności jest późne rozpoznanie choroby, związane z bezobjawowym przebiegiem jej początkowych stadiów i z brakiem skutecznych narzędzi do wczesnej diagnostyki oraz do badań przesiewowych.

Standardowe leczenie zaawansowanego raka jajnika obejmuje zabieg chirurgiczny i chemioterapię na bazie paklitakselu i pochodnych platyny. Większość pacjentek odpowiada bardzo dobrze na leczenie, jednak problemem są nawroty choroby i narastająca chemiooporność. W ostatnich latach, w leczeniu nawrotowego raka jajnika znajdują zastosowanie tzw. leki celowane, ukierunkowane na określone cele biologiczne. Badania kliniczne wskazują, że czas przeżycia pacjentek z rakiem jajnika może być znacząco wydłużony dzięki takim lekom jak inhibitory polimerazy poli(ADP-rybozy) (ang. *poly (ADP-ribose) polymerase*, PARP). Sukcesy związane z zastosowaniem inhibitorów PARP dają nadzieję, że rak jajnika, jako jeden z pierwszych nowotworów może się stać chorobą przewlekłą, którą będzie można z powodzeniem kontrolować przez lata. Sukcesy te zachęcają również do dalszych badań nad biologią raka jajnika i do poszukiwania nowych biomarkerów i leków celowanych.

Ważnym problemem w badaniach nad rakiem jajnika jest to, że stanowi on wysoce heterogenną grupę podjednostek chorobowych, charakteryzujących się niejednorodnym pochodzeniem histologicznym. Najczęściej występującym typem raka jajnika jest niskozróżnicowany rak surowiczy (ang. *high-grade serous ovarian cancer*, HGSOC), wykazujący najgorsze rokowanie. Wśród pozostałych głównych typów histologicznych wyróżnia się raka jasnokomórkowego, endometrioidalnego, śluzowego, mieszanego i dobrze zróżnicowanego surowiczego (ang. *low-grade serous ovarian cancer*, LGSOC). Każdy typ histologiczny posiada określone cechy kliniczne, genetyczne i molekularne. Wiedza nagromadzona w ciągu ostatnich kilkunastu lat każe zredefiniować rozumienie choroby nazywanej tradycyjnie rakiem jajnika. Wiele danych wskazuje, że jest to sztuczny termin, obejmujący różne nowotwory zlokalizowane w obszarze miednicy, które mają odrębną histogenezę, inne tory mutacyjne i odmienny obraz kliniczny. Wiedzę o heterogenności raków jajnika należy zatem uwzględniać zarówno w profilaktyce i postępowaniu klinicznym, jak i w projektowaniu badań.

We wcześniejszych badaniach zespołu prof. Katarzyny Lisowskiej, za pomocą mikromacierzy DNA, zidentyfikowano dwa podtypy molekularne niskozróżnicowanego raka surowiczego jajnika różniące się profilem ekspresji genów i czasem przeżycia (ang. *overall survival*, OS). Wśród genów o zróżnicowanej ekspresji był m.in. gen *ITGBL1* (ang. *Integrin beta-like 1*), kodujący słabo poznane białko składające się z dziesięciu powtórzeń typu EGF (ang. *EGF-like*).

Celem prac eksperymentalnych wchodzących w skład rozprawy doktorskiej było zbadanie wpływu białka *ITGBL1* na fenotyp komórek raka jajnika, a w szczególności ustalenie wpływu *ITGBL1* na tempo wzrostu, migracji, inwazji oraz adhezji komórek w warunkach *in vitro*. Ponadto, zbadano wpływ *ITGBL1* na przeżywalność komórek traktowanych czynnikami cytotoksycznymi stosowanymi standardowo w leczeniu raka jajnika (cisplatyna i paklitaksel).

Przeanalizowano ekspresję czterech potencjalnych izoform mRNA *ITGBL1* w pięciu liniach komórkowych raka jajnika. Linie komórkowe OAW42 i SKOV3, mające najniższy (niemal zerowy) poziom mRNA *ITGBL1*, wybrano do skonstruowania modelu komórkowego z nadekspresją *ITGBL1*. W tych komórkach za pomocą RT-PCR można było wykryć obfitą ekspresję mRNA *ITGBL1*. Immunodetekcja była skuteczna tylko w pożywkach hodowlanych, co sugeruje, że *ITGBL1* jest skutecznie wydzielany na zewnątrz komórki.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że nadekspresja *ITGBL1* wpływała na adhezję, migrację i inwazyjność komórek, natomiast nie ma wpływu na tempo proliferacji i cykl komórkowy. Komórki z nadekspresją *ITGBL1* były bardziej odporne na cisplatynę i paklitaksel, główne leki stosowane

w leczeniu raka jajnika. Globalna analiza ekspresji genów wykazała, że szlaki sygnalizacyjne, na które wpływa nadekspresja *ITGBL1* w raku jajnika, to głównie szlaki związane ze strukturą i funkcją macierzy zewnątrzkomórkowej, komunikacją międzykomórkową, migracją i sygnalizacją za pośrednictwem integrzyn. Wyniki te są zgodne z wynikami przeprowadzonych badań funkcjonalnych.

Zarówno analiza struktury aminokwasowej jak i wyniki badań eksperymentalnych wchodzących w skład pracy doktorskiej wskazują, że *ITGBL1* jest białkiem wydzielniczym. Biorąc pod uwagę fakt, że białko to oprócz sekwencji sygnałowej zawiera wyłącznie 10 powtórzeń EGF-like, jego mechanizm działania musi bazować na aktywnościach jakie zapewniają struktury typu EGF. Motywy EGF często występują w białkach o charakterze czynników wzrostu, jednak wyniki przedstawione w pracy doktorskiej nie potwierdzają takiej aktywności *ITGBL1* w raku jajnika. Inną cechą sekwencji EGF-like jest zdolność oddziaływania z innymi białkami. Oddziaływania z integrzynami i innymi białkami komórkowymi i modulowanie ich aktywności mogą być podstawą mechanizmu działania *ITGBL1*, jednak to wymaga potwierdzenia w dalszych badaniach.

Lista publikacji wchodzących w skład rozprawy

1. **Cortez A.J.***, Tudrej P.*, Kujawa K.A., Lisowska K.M.. Advances in ovarian cancer therapy. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 2018, 81(1): 17-38. doi: 10.1007/s00280-017-3501-8. (*contributed equally). Impact Factor: 3.008 (2018)
2. **Cortez A.J.**, Kujawa K.A., Wilk A.M., Sojka D.R., Syrkis J.P., Olbryt M. and Lisowska K.M.. Evaluation of the Role of *ITGBL1* in Ovarian Cancer. *Cancers*. 2020, 12(9):2676. doi: 10.3390/cancers12092676. Impact Factor: 6.126 (2019)
3. **Cortez A.J.**, Kujawa K.A., Tudrej P.A., Lisowska K.M.. Detection of *ITGBL1* mRNA isoforms in ovarian cancer cells. 2020 IGCS xDigital Annual Global Meeting, 10-13.09.2020, *International Journal of Gynecological Cancer*, 2020, 30, Suppl. 3, Abstract No. IGCS-1031, doi: 10.1136/ijgc-2020-IGCS.65. Impact Factor: 2.095 (2019)
4. **Cortez A.J.**, Kujawa K.A., Tudrej P.A., Lisowska K.M.. Integrin beta-like 1 overexpression stimulates invasiveness of ovarian cancer cells in vitro. ESMO 2018 Annual Congress, 19-23.10.2018, Monachium, Niemcy. *Annals of Oncology*, 2018, 29 (suppl_8): viii10-viii11. doi: 10.1093/annonc/mdy268.036. Impact Factor: 14.196 (2018)
5. **Cortez A.J.**, Kujawa K.A., Tudrej P.A., Lisowska K.M.. The influence of *ITGBL1* protein on ovarian cancer cells proliferation and chemoresistance. 20th International Meeting of the European Society of Gynaecological oncology (ESGO), 04-07.11.2017, Wiedeń, Austria, *International Journal of Gynecological Cancer*, 2017, 27, Suppl. 4, Abstract No. ESGO7-1397, p. 1931. doi: 10.1097/01.IGC.0000527296. 86225.87 Impact Factor: 2.192 (2017)