

Marta Wawro

**Rola podjednostek tubulin klasy  $\beta$   
w przemianie śródbłonkowo-mezenchymalnej**

**Rozprawa doktorska**

wykonana

w Zakładzie Molekularnych Mechanizmów Komórkowych

Katedry Nauk Biomedycznych

na Wydziale Nauk o Zdrowiu

Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Promotor:

prof. dr hab. Jolanta Niewiarowska

Promotor pomocniczy:

dr inż. Katarzyna Sobierajska

*Praca finansowana z projektu realizowanego w ramach  
polsko-norweskiej współpracy badawczej MOMENTO (Pol-Nor/202952/5/2013)*

Łódź 2019

## STRESZCZENIE

Stale rosnąca liczba zachorowań na nowotwory i choroby o podłożu zwłóknieniowym, m.in. twardzinę układową i miażdżycę, skłania badaczy do dokładnego poznania molekularnych mechanizmów ich rozwoju. Podstawowym procesem przyczyniającym się do powstawania tych schorzeń jest przemiana śródbłonkowo-mezenchymalna (EndMT; ang. *endothelial-mesenchymal transition*), podczas której dochodzi do zmiany fenotypu komórek i związanej z nią regulacji poziomu białek markerowych. Jednocześnie komórki, tracąc połączenia międzykomórkowe i wydłużając się, przybierają kształt charakterystyczny dla mezenchymalnych. Zmiany te przyczyniają się do modulacji adhezji do białek macierzy pozakomórkowej i przyspieszenia migracji komórek. Obserwowane procesy są efektem reorganizacji cytoszkieletu komórkowego. Wyróżniamy trzy typy włókien wchodzących w jego skład: mikrofilamenty (MF; cytoszkielet aktynowy), filamenty pośrednie (IF; ang. *intermediate filaments*) i mikrotubule (MT). Ostatnie z tych struktur pełnią kluczową rolę w przeciwdziałaniu mechanicznemu naprężeniu, utrzymaniu kształtu komórek, transporcie wewnątrzkomórkowym organelli, budowie wrzeciona kariokinetycznego, regulacji migracji i adhezji komórek. Zmiany poziomu podjednostek oraz potranslacyjne izotypów tubulin wpływają na funkcję mikrotubul. Fakt ten stał się podstawą hipotezy zakładającej rolę tubulin klasy  $\beta$  w EndMT.

Badania przeprowadzono na ludzkich komórkach śródbłonka mikronaczyń (HMEC-1), w których EndMT wywoływano TGF- $\beta$ 1, czynnikiem transkrypcyjnym Snail i komórkami raka jelita grubego (CRC; ang. *colorectal cancer cell*). Zaobserwowano, że podwyższenie poziomu dwóch spośród tubulin klasy  $\beta$ : (tubuliny- $\beta$ 3 i tubuliny- $\beta$ 4) skutkuje wydłużeniem komórek i zwiększeniem ich migracji. Wykazano, iż efekt ten jest wywoływany przez parakryne oddziaływanie inwazyjnych komórek linii nowotworu jelita grubego na komórki śródbłonka, głównie poprzez czynnik wzrostu nowotworów  $\beta$ 2 (TGF- $\beta$ 2). Jednocześnie zaobserwowano

wyższy poziom fosforylacji tubuliny- $\beta$ 3, sugerujący istotność oddziaływań MT z białkami towarzyszącymi mikrotubulom (MAPs) w kształtowaniu charakteru mezenchymalnego komórek. Wyniki badań zjawiska chemiooporności dowiodły udziału tubuliny- $\beta$ 3 w jego stymulacji. Zauważono, że winkrystyna, alkaloid barwinka różyczkowego stosowany powszechnie w leczeniu inwazyjnych stadiów nowotworu jelita grubego, stymuluje EndMT w komórkach śródbłonna poprzez parakryne oddziaływania pomiędzy komórkami guza a fibroblastami mu towarzyszącymi (CAFs; ang. *cancer associated fibroblasts*). CAFs są heterogenną grupą fibroblastów powstałą podczas różnicowania się komórek obecnych w niszy guza, takich jak np. komórki nabłonka (EMT; przemiana nabłonkowo-mezenchymalna; ang. *epithelial to mesenchymal transition*), śródbłonna (EndMT). We wczesnych stadiach zaawansowania nowotworu CAFs sprzyjają silnej proliferacji komórek guza, podczas gdy w późniejszych promują jego inwazyjność, zwiększając częstotliwość występowania przerzutów odległych.

Dowiedziano, że zastosowanie niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ; ibuprofenu i aspiryny), znanych z immunoprotekcyjnego działania względem nowotworu jelita grubego, hamuje przemianę EndMT poprzez szybszą polimeryzację podjednostek tubulin oraz zahamowanie fosforylacji tubuliny- $\beta$ 3. Reasumując, rozszerzenie terapii o NLPZ (ibuprofen i aspirynę), działające poprzez obniżenie poziomu tubuliny- $\beta$ 3 i zahamowanie fosforylacji tubuliny- $\beta$ 3, zdają się być obiecującym kierunkiem stworzenia skutecznych strategii leczenia stosowanych w zaawansowanych stadiach raka jelita grubego.