

„Ekspresja wybranych czynników związanych z niestabilnością genomową w gruczolakoraku przewodowym trzustki: ocena wartości prognostycznej oraz wpływu na chemiooporność komórek nowotworowych”

Badania prowadzone w ostatnich latach wykazały, że kluczową rolę w patogenezie i progresji raka trzustki odgrywa niestabilność genomowa (ang. genomic instability, GIN). W obliczu tych doniesień oraz braku czynników pozwalających na skuteczne przewidywanie przebiegu choroby, w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej podjęto próbę zidentyfikowania nowych markerów prognostycznych raka trzustki. Do analiz wytypowano cztery białka związane z GIN, których ekspresja ulega deregulacji w gruczolakoraku przewodowych trzustki (ang. pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC): cyklinę F, RRM2, SPDL1 i SKA3. Badanie podzielono na dwa etapy. Pierwszy z nich przeprowadzono w oparciu o dane transkryptomiczne zgromadzone w ramach projektu TCGA oraz z wykorzystaniem materiału tkankowego pobranego od pacjentów z PDAC. Celem tej części badania była ocena ekspresji cykliny F, RRM2, SPDL1 i SKA3 (na poziomie mRNA oraz białka) w kontekście jej wartości rokowniczej w raku trzustki oraz związku z wybranymi cechami kliniczno-patologicznymi pacjentów. Drugi etap obejmował testy *in vitro* przeprowadzone na ludzkiej linii komórkowej raka trzustki PANC-1 w celu oceny wpływu zmiany ekspresji genu *SPDL1* na właściwości biologiczne komórek oraz ich odpowiedź na działanie wybranych leków przeciwnowotworowych.

Wykazano, że podwyższona ekspresja mRNA każdego z analizowanych czynników stanowi niezależny niekorzystny wskaźnik rokowniczy w gruczolakoraku trzustki. Dodatkowo stwierdzono, iż analiza łączonej ekspresji mRNA *SPDL1*, *CCNF* i *RRM2* pozwala lepiej przewidywać przeżycie pacjentów niż ocena każdego z tych genów oddzielnie. Ocena związku pomiędzy poziomem białek: cykliny F, RRM2, SPDL1 i SKA3 a czasem przeżycia pacjentów z PDAC wykazała, że wysoka immunoekspresja dwóch z nich, tj. SPDL1 i SKA3 stanowi niezależny predyktor korzystnego rokowania pacjentów z PDAC w kontekście czasu przeżycia całkowitego, a w przypadku SKA3 także czasu przeżycia wolnego od choroby.

Eksperymenty *in vitro* pokazały, że wyciszenie ekspresji genu *SPDL1* w linii komórkowej PANC-1 obniża tempo proliferacji, osłabia potencjał klonogeny i stymuluje aktywność migracyjną komórek. Ponadto istotnie wpływa na ich morfologię. W badanej populacji odnotowano m.in. obecność dużych komórek wielojądrowych oraz mikrojąder, a także

zaburzenia procesu mitozy. Zmianom tym często towarzyszyła podwyższona ekspresja γ H2AX w obrębie jąder komórkowych. W badanych komórkach stwierdzono także podwyższoną ekspresję czynników utożsamianych z agresywnością biologiczną komórek nowotworowych (m.in. *CDH2*, *VIM*, *MMP9*, *CD44*). Powyższe obserwacje pozwalają wnioskować, iż obniżona ekspresja *SPDL1* zaburza segregację chromosomów oraz prowadzi do powstania uszkodzeń nici DNA, co napędza GIN komórek raka trzustki. Ponadto, w odniesieniu do pierwszego etapu badań sugerują, że korzystna wartość prognostyczna białka *SPDL1* jest prawdopodobnie związana z przeciwdziałaniem GIN oraz inwazji i migracji komórek raka trzustki.

W dalszych etapach badań *in vitro* oceniono wpływ zmiany ekspresji genu *SPDL1* na cytotoksyczność wybranych leków przeciwnowotworowych wobec komórek linii PANC-1. Wykazano, że paklitaksel i gemcitabina stosowane w osiągalnych klinicznie dawkach istotnie obniżają przeżycie komórek PANC-1-*SPDL1*↓ kierując część z nich na drogę apoptozy. Wysłunięto wniosek, że zwiększona chemiowrażliwość na działanie testowanych leków może wynikać ze spotęgowanej GIN badanych komórek.

Wyniki przedstawione w niniejszej rozprawie doktorskiej pozwalają wnioskować, iż ekspresję wszystkich analizowanych w badaniu transkryptów, a także białek *SPDL1* i *SKA3*, należy rozpatrywać jako potencjalne czynniki prognostyczne w raku trzustki, które wymagają walidacji w badaniach wieloośrodkowych prowadzonych na większych grupach pacjentów. Ponadto przeprowadzone badania *in vitro* pokazują, że obniżenie ekspresji *SPDL1* potęguje niestabilność genetyczną komórek PDAC, co może stanowić wytłumaczenie dla ich

