

MGR MARTA ORLICKA-PŁOCKA

STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

N⁶-furfuryloadenozyna (rybozyd kinetyny, RK) jest pochodną adenozy, która hamuje proliferację komórek nowotworowych. Jej aktywność jest zależna od kinazy adenozynowej, która decyduje o jej toksyczności.

W celu sprawdzenia czy RK może brać udział w wewnątrzkomórkowym, metabolicznym przepływie puryn i w ten sposób zakłócać funkcje enzymów biosyntezy puryn, wykorzystałam stabilny izotop. Znakowany RK był metabolizowany przez komórki nowotworowe, co prowadziło do produkcji metabolitów. Używając różnych, komplementarnych testów komórkowych, prześledziłam drogę metabolitów pośrednich, powstałych w wyniku enzymatycznej transformacji [¹³C]RK w komórkach nowotworu wątrobowokomórkowego (linia komórkowa HepG2) i wykazałam obecność licznych modyfikacji w DNA i RNA. Tak szczegółowe badania ukazały złożoność działania rybozydu kinetyny w komórkach nowotworowych, powodując zaburzenia metaboliczne, asocjację purynosomu i w ostateczności indukcję śmierci komórki. Uzyskane wyniki wskazują, że w metabolizm pochodnych purynowych oraz regulację ich biosyntezy i transformację w komórkach nowotworowych, zaangażowane są wszystkie trzy szlaki (*de novo*, rezerwowy i kataboliczny), wzajemnie się uzupełniające poprzez dostarczanie metabolitów pośrednich do kolejnych syntez.

Potwierdziłam, że rybozyd kinetyny w komórkach nowotworowych wykazuje złożony mechanizm działania, wpływając na wiele poziomów organizacji komórki. Jego obecność zaburza metabolizm komórek nowotworowych, powodując brak równowagi energetycznej, oksydacyjnej, spowalniając proliferację komórek nowotworowych.

Terapie oparte na związkach małowcząsteczkowych umożliwiły nowe spojrzenie na leczenie nowotworów z uwzględnieniem zaburzeń funkcji mitochondrialnych, takich jak obniżenie potencjału błony mitochondrialnej, indukcja stresu oksydacyjnego, czy wpływ na ich morfologię. Wykazałam, że RK to związek, który selektywnie wpływa na szlaki molekularne, kluczowe dla wzrostu i apoptozy komórek poprzez zakłócanie funkcji mitochondriów, a tym samym może być potencjalnym środkiem mitotoksycznym. Metabolizm komórek nowotworowych opiera się głównie na efekcie Crabtree, który polega na indukowanym przez glukozę zahamowaniu oddychania komórkowego, a tym samym fosforylacji oksydacyjnej (OXPHOS), co wspomaga przeżycie komórek nowotworowych

w warunkach stresu metabolicznego. Najprostszym sposobem obejścia tego zjawiska było zastąpienie glukozy galaktozą w środowisku hodowlanym. W konsekwencji komórki stały się bardziej wrażliwe na perturbacje mitochondrialne wywołane przez czynnik mitotoksyczny. W niniejszej pracy zbadalam wpływ RK na funkcje mitochondriów w komórkach HepG2 zmuszonych do polegania głównie na OXPHOS.

Wykazałam, że RK w środowisku galaktozy jest silniejszym czynnikiem indukującym apoptozę, obniża potencjał błony mitochondrialnej, zmniejsza poziom glutationu, wyczerpuje ATP komórkowe i indukuje produkcję reaktywnych form tlenu (RFT) w stanie OXPHOS, co prowadzi do utraty żywotności komórek.

Ostatni etap moich badań stanowiło wykazanie wpływu RK i jego pochodnych na status redoks komórek glejaka wielopostaciowego. Terapie przeciwnowotworowe oparte na związkach małowcząsteczkowych, poprzez upośledzenie balansu oksydacyjnego, mogłyby także stanowić nowe podejście terapeutyczne w leczeniu glejaka wielopostaciowego (GBM). Rybozyd kinetyny i nowo zaprojektowane pochodne (8-azaRK, 7-deazaRK) selektywnie wpływają na szlaki molekularne, kluczowe dla wzrostu komórek poprzez zakłócanie statusu redoks komórek nowotworowych. Dzięki temu związki te mogą stanowić potencjalną alternatywę w terapii oksydacyjnej GBM. Podwyższony podstawowy poziom reaktywnych form tlenu (RFT) w GBM wspomaga przeżycie komórek nowotworowych i powoduje ich oporność na leki. Najprostszym sposobem indukowania śmierci komórek jest osiągnięcie progu redoks i ominięcie mechanizmów obrony antyoksydacyjnej. W konsekwencji, komórki stają się bardziej wrażliwe na stres oksydacyjny (SO) wywołany przez czynniki egzogenne. W niniejszej pracy zbadalam wpływ RK i jego pochodnych na status redoks komórek T98G w hodowlach 2D i 3D. Zastosowanie sferoidów komórek T98G pozwoliło mi na wyselekcjonowanie jednej pochodnej - 7-deazaRK - o porównywalnej z RK aktywności przeciwnowotworowej. Oba związki indukowały powstawanie RFT i genotoksycznego SO, powodując peroksydację lipidów i prowadząc do apoptozy. Wyniki te wskazują, że RK i 7-deazaRK modulują komórkowe środowisko redoks komórek T98G, a wrażliwość tych komórek zależy od wydajności mechanizmów antyoksydacyjnych.