

Streszczenie

Białko p53 jest czynnikiem transkrypcyjnym regulującym mechanizmy komórkowe prowadzące do zahamowania procesu nowotworzenia. Aktywacja białka p53 prowadzi do regresji nowotworów *in vivo*, jednakże gen je kodujący jest zmutowany w ponad połowie wszystkich nowotworów, dlatego strategie mające na celu aktywację p53 nie odniosły spodziewanego rezultatu w praktyce klinicznej. Wyniki badań prowadzonych na modelach komórkowych oraz *in vivo* wskazują, że homologiczne do p53 białko p73 może przejąć supresorowe funkcje p53 w nowotworach, w których białko p53 jest nieaktywne. Mutacje genu kodującego białko p73 występują w mniej niż 0,1% przypadków nowotworów, co czyni z tego białka obiecujący cel nowych terapii przeciwnowotworowych.

Protoporfiryna IX (PpIX) powoduje śmierć komórek nowotworowych na drodze aktywacji ścieżki sygnałowej białka p53. Celem pracy doktorskiej była analiza przeciwnowotworowej aktywności protoporfiryny IX (PpIX) w komórkach nowotworowych pozbawionych białka p53.

Stosując testy proliferacyjne, cytometryczną analizę śmierci komórek oraz analizy Western blot wykazano, że protoporfiryna IX powoduje śmierć linii komórkowych niedrobonkomórkowego raka płuca H1299 oraz raka jelita grubego HCT 116 *TP53*^{-/-} przez indukcję ścieżki wewnętrznej apoptozy. W analizowanych liniach komórek nowotworowych PpIX indukowała chroniczną odpowiedź stresową retikulum endoplazmatycznego oraz prowadziła do indukcji procesu autofagii, przyczyniającego się do śmierci komórek nowotworowych. Protoporfiryna IX wiązała się do N-terminalnej domeny białka TAp73 *in vitro* i stabilizowała supresorowe izoformy białka p73 (TAp73) w komórkach nowotworowych oraz w mysich modelach ksenograftów raka jelita grubego. Stosując technikę koimmunoprecypitacji wykazano, że stabilizacja białka TAp73 była wynikiem zaburzenia oddziaływań z białkami regulującymi aktywność TAp73 w komórkach – Itch, MDM2 i NQO-1. Śmierć komórek nowotworowych w odpowiedzi na protoporfirynę IX była powiązana z aktywnością białka TAp73, gdyż wyciszenie ekspresji genu kodującego TAp73 przy użyciu siRNA obniżyło wrażliwość komórek na PpIX oraz hamowało PpIX-zależną transkrypcję proapoptotycznego genu *PUMA* i proteolityczną dezaktywację polimerazy PARP-1.

Przeprowadzone w pracy doktorskiej badania wskazują na istotną rolę supresorowych izoform białka p73 w śmierci komórek nowotworowych z nieaktywnym białkiem p53. Zwracają również uwagę na to, że w odpowiedzi na bodźce stresowe nawet mechanizmy mające pierwotnie cytoprotekcyjne działanie mogą finalnie prowadzić do śmierci komórek. Decyduje o tym intensywność i czas trwania bodźca stresowego, aktywność ścieżek sygnałowych regulujących te mechanizmy, a także wzajemna komunikacja między różnymi procesami w komórce.