Mgr Magdalena Nowakowska

***„Rola genu supresorowego WWOX na kancerogenezę raka jelita grubego.***

***Wpływ zróżnicowania ekspresji WWOX na transkrypcję genów apoptozy,***

***proliferacji i regulacji szlaków sygnałowych w liniach komórkowych raka***

***jelita”.***

Nowotwory jelita grubego stanowią poważny problem zdrowotny i znajdują się w czołówce

statystyk epidemiologicznych zarówno pod względem zachorowalności, jak i umieralności. W

Polsce określane są jako zmiany o największej dynamice wzrostu. Pomimo znacznego

rozwoju wiedzy dotyczącej procesu transformacji nowotworowej obejmującej prawidłowy

nabłonek jelita, w dalszym ciągu powszechnie stosowaną jest klasyfikacja kliniczno-histopatologiczna. Pod względem molekularnym wyróżnia się trzy drogi transformacji

nowotworowej prawidłowych komórek jelita grubego. Większość raków tego typu

charakteryzuje sie niestabilnością chromosomalną (CIN-*chromosomal instability*). Fenotyp

metylatora wysp CpG (CIMP- *CpG methylator phenotype*) oraz niestabilność satelitarna MSI

(*Microsatellite instability*) są rozpatrywane, jako pozostałe dwa szlaki przemiany rakowej

komórek jelita grubego. Rak jelita grubego wywodzący się z konkretnego szlaku

charakteryzuje się odmiennymi zmianami na poziomie genomu, transkryptomu, jak i

proteomu.

*WWOX* jest genem supresorowym z miejsca łamliwego FRA16D, którego wpływ na proces

kancerogenezy został potwierdzony w wielu typach nowotworów, m.in. raku piersi, prostaty

czy płuc. Spadek jego ekspresji koreluje z wyższym stopniem zaawansowania zmiany oraz

gorszą prognozą. Jego funkcja supresorowa została potwierdzona w licznych badaniach *in*

*vitro* i *in vivo*. Na ich podstawie określono, iż odgrywa on istotną rolę w kontroli procesów

komórkowych, tj. różnicowanie, apoptoza, proliferacja czy przekaźnictwo sygnałowe. Rola

*WWOX* w kancerogenezie jelita grubego jak do tej pory nie została do końca poznana.

Celem rozprawy doktorskiej było określenie zmian profili ekspresji genów szlaków

sygnałowych i funkcjonalnych w raku jelita grubego inicjowanych zwiększeniem ilości białka

WWOX, a także zbadanie wpływu na podstawowe funkcje komórkowe tj. żywotność,

proliferacja i apoptoza. Przeprowadzone doświadczenia miały na celu dokładniejsze poznanie

roli *WWOX* w kancerogenezie jelita grubego.

Do doświadczeń wybrano dwie linie komórkowe raka jelita grubego tj. HT29 oraz SW480,

które charakteryzowały się odpowiednio brakiem lub bardzo niską ekspresją badanego genu. Każdą z linii transdukowano pustym wektorem (kontrola negatywna) oraz wektorem

zawierającym cDNA badanego genu. Na tak zmodyfikowanych liniach przeprowadzono serię

eksperymentów. Analiza mikromacierzowa przy zastosowaniu mikromacierzy genomowych Human OneArray™ PhalanxBiotech miała na celu określenie regulowanych przez *WWOX*

szlaków sygnałowych i procesów biologicznych. Ponadto, wykonano serię testów

biologicznych na żywotność, proliferację, apoptozę, wzrost w miękkim agarze, inwazyjność

oraz adhezję do białek macierzy zewnątrzkomórkowej. W modyfikowanych liniach określono również poziom ekspresji podstawowych markerów nowotworowych przy użyciu Real time RT-PCR. Dla uwidocznienia całkowitego efektu działania genu *WWOX*, analizę

mikromacierzową przeprowadzono również na próbkach nowotworowych CRC, które

zróżnicowano pod względem ekspresji genu *WWOX*.

W wyniku przeprowadzonych doświadczeń potwierdzono wpływ genu *WWOX* na proces

proliferacji i apoptozy. Wykazano również funkcję regulacyjną na szlaki sygnałowe m.in.

WNT, TGF-β, które są istotne z punktu widzenia procesu kancerogenezy obejmującej

komórki jelita grubego. Ponadto, wyodrębniono geny, które mogą stanowić potencjalne

białka partnerskie dla WWOX. Uzyskane różnice w przeprowadzonych eksperymentach dla

obydwu linii mogą wskazywać na odrębnie przebiegający w nich proces kancerogenezy.

Mogą one również sugerować, że dla SW480 gen ten wykazuje typowo supresorowy

charakter działania, a w linii HT29 wzrost jego ekspresji skutkuje nabyciem fenotypu

proliferujących, prawidłowych komórek krypt jelita. Zakładając również udział WWOX w

regulacji różnicowania komórek możemy przypuszczać, że proces transformacji nowotworowej w badanych liniach rozpoczął się w różnych stadiach pomiędzy komórką

pierwotną a w pełni ukształtowaną komórką jelita, czego efektem jest odmienna reakcja na

zmiany w poziomie WWOX.

Przeprowadzone doświadczenia nakreśliły złożoną funkcję genu *WWOX* w regulacji procesu

kancerogenezy jelita grubego i wymagają kolejnych badań rozszerzających wiedzę nt. roli

tego genu w jelicie grubym.