

## 1. Streszczenie

Nowotwór piersi jest najczęstszym nowotworem złośliwym występującym u kobiet. Cechą charakterystyczną ok. 70% złośliwych guzów piersi jest występowanie receptora estrogenowego (ER $\alpha$ ). W tego typu przypadkach podstawową metodą systemowego leczenia jest hormonoterapia. W hormonoterapii estrogenozależnych raków piersi najczęściej stosowanym lekami są selektywne modulatory receptorów estrogenowych, w tym tamoksyfen. Aktywny metabolit tamoksyfenu-4-hydroksytamoksyfen wykazuje silne powinowactwo do receptora estrogenowego. Łącząc się z nim, blokuje oddziaływanie receptora z jego naturalnym ligandem-estrogenem, powodując zahamowanie proliferacji, migracji oraz inwazji komórek guza. Jednakże terapia z wykorzystaniem tamoksyfenu może powodować poważne skutki uboczne, takie jak: rak trzonu macicy, torbiele jajników, udar mózgu, zatorowość płucną, zakrzepicę żył głębokich, małopłytkowość, leukopenię, hiperkalcemię. Ponadto skuteczność tej terapii ulega ograniczeniu w wyniku wykształcenia przez komórki guza oporności na tamoksyfen, co wiąże się z nawrotem choroby oraz złym rokowaniem.

Rozwiązaniem problemów związanych z występowaniem poważnych skutków ubocznych, a także opornością komórek na stosowany lek może być zastosowanie terapii łączącej dwa czynniki: lek oraz związek, który uwrażliwi komórki nowotworu piersi na działanie 4-hydroksytamoksyfenu. W tym celu w niniejszej pracy wykorzystano izotiocyjaniany, związki biologicznie czynne, występujące w roślinach kapustowatych. Dane doświadczalne potwierdzają chemoprewencyjne właściwości tych fitozwiązków, szczególnie sulforafanu i erucyny, na wszystkich etapach procesu nowotworzenia. Ponadto izotiocyjaniany te zmniejszają wielkość guzów już powstałych, co zostało potwierdzone w eksperymentach przeprowadzonych *in vivo*. Sulforafan oraz erucyna hamują również nadmierną aktywację kinaz szlaków proprzeżyciowych, które przyczyniają się do zmniejszenia wrażliwości komórek guza na działanie 4-hydroksytamoksyfenu oraz rozwoju oporności na leczenie.

Celem niniejszej pracy była weryfikacja hipotezy o współdziałaniu sulforafanu oraz erucyny z 4-hydroksytamoksyfenem w indukcji śmierci estrogenozależnych komórek nowotworu piersi oraz charakterystyka mechanizmu współdziałania tych związków.

Wyniki badań przeprowadzonych w ramach rozprawy doktorskiej pozwalają stwierdzić, że badane kombinacje współdziałają w obniżeniu żywotności fenotypowo różnych estrogenozależnych komórek nowotworu piersi linii MCF-7, T47D oraz BT-474,

a współdziałanie to przyjmuje charakter synergistyczny. Obniżenie żywotności komórek związane jest z indukcją apoptozy na drodze mitochondrialnej, o czym świadczą zmiany wewnątrzkomórkowego poziomu białek antyapoptotycznych (Bcl-2, surwiwina) oraz proapoptotycznego białka Bax, a także markera stresu mitochondrialnego - białka ADRP, przy czym obserwowany efekt jest specyficzny względem danej linii komórkowej. Indukcja śmierci komórkowej tłumaczy znaczny spadek potencjału klonogenicznego komórek linii MCF-7 oraz T47D traktowanych kombinacjami związków oraz komórek BT-474 poddanych łącznemu działaniu sulforafanu i 4-hydroksytamoksyfenu. Badane kombinacje związków powodują również wzmożenie autofagii, który to proces w przypadku linii komórkowych MCF-7 oraz T47D pełni funkcję ochronną. Ponadto zarówno sulforafan jak i erucyna, uwrażliwiają komórki odporne na działanie 4-hydroksytamoksyfenu na ten antyestrogen. Podobny efekt obserwowano w przypadku komórek o fenotypie potrójnie negatywnym (linii MDA-MB-231) traktowanych erucyną i 4-hydroksytamoksyfenem w stężeniu 5  $\mu$ M. Niezwykle istotny w kontekście terapii antynowotworowych jest również fakt, że badane kombinacje w znikomym stopniu wpływają na żywotność niezmiennych nowotworowo komórek nabłonka gruczołu sutkowego.

Reasumując, uzyskane wyniki potwierdzają słuszność hipotezy o antynowotworowym współdziałaniu badanych kombinacji związków wobec estrogenozależnych komórek nowotworu piersi. Współdziałanie to ma charakter synergistyczny, a jego mechanizm opiera się w głównej mierze na indukcji procesu apoptozy na drodze mitochondrialnej.