

UNIwersytet Jagielloński
Collegium Medicum
Wydział Farmaceutyczny
Zakład Biochemii Farmaceutycznej



Piotr Kamil Różga

*Opracowanie nowego rekombinowanego białka fuzyjnego
o właściwościach proapoptotycznych i antyangiogennych, do
celowanej terapii przeciwnowotworowej*

STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Promotor pracy: prof. dr hab. Elżbieta Pękała

Kraków 2021

Streszczenie

Choroby nowotworowe stanowią jedno z największych wyzwań współczesnej medycyny. Pomimo ogromnego postępu badań naukowych, nie wynaleziono skutecznej metody zapobiegania tym chorobom, wobec czego wysiłki naukowców koncentrują się głównie wokół opracowywania nowych metod ich leczenia.

Odkrycie w latach 90 białka TRAIL wywołało ogromny entuzjazm w świecie naukowym. Było to spowodowane przejawianiem przez ten ligand wyjątkowych właściwości, tj. indukowaniem procesu programowanej śmierci w komórkach nowotworowych przy braku uszkodzenia zdrowych komórek. Badania kliniczne strategii opartej na monoterapii ligandem TRAIL nie wykazały jednak skuteczności. Wraz z postępem badań nad strukturą i funkcją tego liganda odkryto, że komórki nowotworowe wytwarzają na niego liczne mechanizmy oporności, co poważnie ograniczyło jego zastosowanie jako cząsteczki terapeutycznej. Obecnie uważa się, że do terapii przeciwnowotworowej skuteczniejsze może być zastosowanie go w postaci cząsteczek wielofunkcyjnych lub w terapii łączonej.

Cennym dodatkiem do strategii przeciwnowotworowej opartej na TRAIL/DR może być celowanie w angiogenezę nowotworu, jako że wzrost guza i przerzuty zależą od tworzenia się nowych naczyń krwionośnych. Już w 1971 roku postulowano, że blokowanie czynników angiogennych może dać efekty w walce z chorobą nowotworową. Czynnikiem wzrostu śródbłonna naczyniowego A (VEGF A), główny mediator w angiogenezie zarówno prawidłowej, jak i nowotworowej, jest jednym z najważniejszych celów molekularnych ulegających nadekspresji w komórkach nowotworowych. VEGF A oddziałuje z dwoma receptorami: VEGFR-1 i VEGFR-2, pośrednicząc w ten sposób we wzroście, migracji i przeżyciu komórek śródbłonna, ponadto stymuluje przepuszczalność naczyń, co może nasilać wynaczynienie komórek nowotworowych i ułatwiać przerzuty. Nie dziwi więc fakt, że nadekspresja VEGF A w niektórych typach nowotworów była związana z progresją guza i złym rokowaniem u pacjentów.

Opisane w tej pracy nowe białko fuzyjne składa się z rekombinowanego wariantu TRAIL połączonego z podwojoną sekwencją peptydów efektorowych złączonych elastycznymi linkerami. Peptyd efektorowy pochodzi z liganda VEGF i jest zdolny do wiązania się z receptorami VEGF, ale nie wykazuje działania angiogennego, co prowadzi do zablokowania angiogennej aktywności VEGF, braku stymulacji tworzenia się nowych naczyń krwionośnych oraz zahamowania wzrostu guza. Wariant fuzyjny VCTR4.0 wykazał specyficzne działanie cytotoksyczne *in vitro* wobec różnych linii komórek nowotworowych

na poziomie IC_{50} poniżej 1 nM. Dodatkowo jego bezpośrednia aktywność antyangiogenna została potwierdzona w teście sferoidalnym HUVEC oraz z wykorzystaniem fragmentów aorty.

Silne działanie przeciwnowotworowe nowej cząsteczki fuzyjnej zostało również potwierdzone na modelu heteroprzeszczepu lekoopornego ludzkiego mięsaka macicy MES-SA/Dx5. Podobny efekt obserwowano w przypadku ludzkiego gruczolaka jelita grubego Colo205, ludzkiego raka trzustki MIA PaCa-2 czy modelu ludzkiego raka wątroby HepG2.

Wszystkie te wyniki dowodzą, że opracowano bardzo obiecującą cząsteczkę o dużym potencjale działania przeciwnowotworowego.

Słowa kluczowe: TRAIL, apoptoza, VEGF, angiogeneza, białko fuzyjne, przeciwnowotworowy