



Streszczenie rozprawy doktorskiej Justyny Wiczek

Według Światowej Organizacji Zdrowia liczba zachorowań na nowotwory w 2025 roku wzrośnie z 14 mln do 19 mln rocznie. Specjaliści nie pozostawiają żadnych złudzeń i przyznają otwarcie, że z każdym rokiem sytuacja będzie coraz gorsza. Z tych powodów poszukiwanie nowych, efektywniejszych dróg walki z chorobami nowotworowymi jest jednym z kluczowych kierunków badań współczesnej medycyny. Powszechnie wiadomo, że radioterapia należy do najczęściej stosowanych metod leczenia zlokalizowanych nowotworów, przy jednoczesnym ryzyku wywołania szeregu negatywnych powikłań prowadzących nawet do nowotworów wtórnych. Jednym ze sposobów zminimalizowania skutków ubocznych tej terapii jest uwrażliwienie komórek nowotworowych na działanie promieniowania jonizującego. Można to osiągnąć dzięki zwiększeniu różnicy w radioczułości komórek zdrowych i chorych, przy jednoczesnym zmniejszeniu dawki promieniowania lub zastąpieniu go mniej szkodliwym promieniowaniem UV. Taki efekt możliwy jest dzięki zastosowaniu radio- bądź fotosensybilizatorów, czyli związków, które uwrażliwiają komórki, szczególnie te zmienione nowotworowo, na działanie promieniowania.

Pomysł stosowania sensybilizatorów nie jest nowy. Jednak pomimo licznych badań teoretycznych, eksperymentalnych, a nawet klinicznych, hipotezy dotyczące sposobu ich działania wciąż pozostają niejasne. Zagadnienia rozwiązywane w ramach mojej pracy doktorskiej pozwoliły na zrozumienie niektórych szczegółów mechanizmu działania jednej z klas tych związków - bromopochodnych zasad nukleinowych (BrZN) – oraz opracowanie technik umożliwiających analizę i kontrolę tego, co dzieje się w napromienianym układzie.



UNIwersYTET GDAŃSKI

Justyna Wiczek



WYDZIAŁ CHEMII
PRACOWNIA SENSYBILIZATORÓW BIOLOGICZNYCH



CHEMIA UG

justyna-wiczek@wp.pl

Wyniki moich badań mogą zatem zostać wykorzystane do opracowania nowej efektywnej terapii antynowotworowej opartej o modyfikowane zasady nukleinowe.

Jednym z problemów badawczych, podejmowanych przeze mnie w pracy doktorskiej, było poznanie wpływu rodzaju sensybilizatora na wydajność powstających uszkodzeń wywołanych przyłączeniem elektronu. Otrzymane wyniki pozwoliły wytypować najkorzystniejsze BrZN (5-BrdU oraz 5-BrdC) które wydajnie prowadzą do nienaprawialnych na poziomie komórki uszkodzeń DNA, a także ostatecznie potwierdzić brak reaktywności wodnych roztworów zawierających natywne DNA.

W ramach pracy doktorskiej prowadziłam również badania nad fotoczułością dłuższych fragmentów DNA, znakowanych 5-BrdU. Opracowanie przeze mnie metodologii, umożliwiającej prostą i szybką analizę uszkodzeń DNA opartą o DHPLC pozwoliło wykazać, że indukowane fotochemicznie pęknięcia DNA uważane za pierwotne, są w rzeczywistości pęknięciami wtórnymi, wywołanymi podwyższoną temperaturą. Co więcej, metoda ta nie tylko umożliwiła detekcję pęknięć nici DNA, ale także innych typów uszkodzeń, takich jak dimery, powstające na skutek tworzenia się wiązań kowalencyjnych między sąsiednimi zasadami. Przy pomocy trawienia enzymatycznego sprzężonego ze spektroskopią mas udało się dokładnie określić ich strukturę. Możliwość wykrycia oraz interpretacji tego typu produktów dostarcza cennych z punktu widzenia przyszłej terapii przeciwnowotworowej informacji.

Wspomniane wyżej trawienie uszkodzonego materiału, choć umożliwia stosunkowo łatwą analizę tego rodzaju produktów, jest czasochłonne i prowadzi do utraty informacji o lokalizacji foto-/radioproduktów w łańcuchu biopolimeru. Dlatego opracowanie kolejnej metody, jaką było zastosowanie qPCR-u, pozwoliło na szybkie i ilościowe oznaczenie



uszkodzeń, niewymagające degradacji DNA. Ponieważ dotychczasowe badania nad układami zawierającymi halogenopochodne zasad nukleinowych ograniczały się do oligonukleotydów znakowanych jedynie kilkoma ich rodzajami, procedury opracowane w ramach tego projektu pozwolą na ilościowe określenie właściwości sensybilizujących znacznie większej grupy potencjalnych sensybilizatorów.

Prowadzone przeze mnie badania dostarczyły danych, które w sposób jakościowy oraz ilościowy opisują proces tworzenia uszkodzeń w modyfikowanym DNA. Z kolei wyniki te mogą zostać wykorzystane przy racjonalnym wyborze pochodnych zasad nukleinowych do dalszych eksperymentów na hodowlach komórek nowotworowych, ostatecznie weryfikujących działanie badanych związków w środowisku docelowym. Na przykład po przeprowadzeniu analizy sekwencji genów kodujących enzymy naprawcze typu BER (ang. Base Excision Repair), można będzie zidentyfikować najczęściej występujące tryplety zasad, a następnie, wykorzystując wiedzę o szczególnie reaktywnych sekwencjach, pozyskaną z wyżej opisanych badań, wybrać tę pochodną, która po wprowadzeniu do DNA będzie wywoływała najpoważniejsze uszkodzenia tych właśnie genów. W ten sposób komórka nowotworowa mogłaby zostać pozbawiona naturalnych mechanizmów naprawczych, a wówczas już stosunkowo niewielkie dawki promieniowania powinny prowadzić do efektów letalnych. Zatem moje badania powinny przyczynić się do opracowania nowej, bezpieczniejszej terapii przeciwnowotworowej. Istotną korzyścią jest również poszerzenie wiedzy o stosowaniu technik takich jak qPCR oraz DHPLC do ilościowej identyfikacji uszkodzeń DNA.