

## STRESZCZENIE

Rak piersi jest najczęściej diagnozowanym nowotworem u kobiet. W Polsce rocznie notuje się około 19 tysięcy nowych przypadków zachorowań na ten typ nowotworu. Leczenie polega głównie na chirurgicznym usunięciu tkanki zmienionej nowotworowo, a następnie miejscowym zastosowaniu radioterapii. W wielu przypadkach np. gdy nowotwór jest w zbyt zaawansowanym stadium, bądź stan ogólny pacjenta nie pozwala na wdrożenie innego leczenia, radioterapia jest jedyną możliwą do zastosowania metodą. Jednak radioterapia nie zawsze jest wystarczająco efektywna. Wynika to głównie z wrodzonej bądź nabytej radiooporność komórek nowotworowych. Dlatego poszukuje się sposobów, które zwiększałyby wrażliwość komórek nowotworowych na działanie promieniowania jonizującego, a jednocześnie chroniłyby komórki prawidłowe przed jego szkodliwym działaniem. W tym aspekcie dużym zainteresowaniem cieszą się niskocząsteczkowe związki pochodzenia naturalnego. Dane literaturowe wskazują, że niektóre związki z grupy polifenoli mogą zwiększać efekty cytotoksycznego działania promieniowania jonizującego na szereg rodzajów komórek nowotworowych. Stąd też celem badawczym pracy była ocena i porównanie działania 3 związków, pochodnych stilbenowych, w kombinacji z promieniowaniem jonizującym na komórki raka piersi.

Badania wykonano na komórkach dwóch linii raka piersi: estrogenozależnej linii MCF-7 oraz hormononiezależnej linii HCC38. Badanymi związkami były resweratrol i dwa jego analogi: piceatannol oraz piceidu.

W pracy oceniono cytotoksyczne właściwości pochodnych stilbenowych w połączeniu z promieniowaniem jonizującym na wybrane komórki raka piersi. Oszacowano stopień zaawansowania apoptozy oraz wskazano szlaki, które uczestniczą w jej indukcji. Sprawdzone także czy dochodzi do uruchomienia mechanizmów antyoksydacyjnej odpowiedzi komórek na działanie reaktywnych form tlenu generowanych radiacyjnie. Ponadto na podstawie poziomu ekspresji białka Rad51 i H2AX ustalono czy dochodzi do indukcji napraw uszkodzonego DNA.

W pracy doktorskiej wykazano, że pochodne stilbenowe stosowane w niskich stężeniach (2,5 – 5  $\mu\text{M}$ ) nie wykazują cytotoksycznego działania na komórki obu badanych linii. Działanie cytotoksyczne obserwowano przy wyższych stężeniach badanych związków. Komórki linii MCF-7 były bardziej wrażliwe w porównaniu do komórek HCC38 zarówno na działanie samych związków jak i w połączeniu z promieniowaniem jonizującym. Związane jest

to ze słabszą aktywacją mechanizmu antyoksydacyjnej odpowiedzi oraz indukcją naprawy radiacyjnie uszkodzonego DNA w komórek MCF-7 niż w komórkach HCC38.

Proces apoptozy zarówno w komórkach MCF-7 jaki w komórkach HCC38 aktywowany jest z udziałem szlaku zewnętrznego jaki i szlaku wewnętrznego. Ponadto uzyskane wyniki wskazują, że w przypadku linii MCF-7 aktywacja programowanej śmierci zachodzi niezależnie od białka p53.

Uzyskane w pracy wyniki pozwalają jednoznacznie stwierdzić, że spośród badanych pochodnych stilbenowych największe radiouczulające właściwości wykazuje resweratrol, nieco mniejsze piceatannol, natomiast najmniejszą skutecznością charakteryzuje się piceid.

Uzyskane w niniejszej pracy doktorskiej wyniki uzupełniają i poszerzają dotychczasowy stan wiedzy dotyczący potencjalnego zastosowania pochodnych stilbenowych w charakterze radiouczulaczy w leczeniu raka piersi.

*Komornicka Dominika*

## ABSTRACT

Breast cancer is the most frequently diagnosed cancer in women. In Poland, there are about 19,000 new cases of this type of cancer annually. Treatment consists mainly of surgical removal of the tumor tissue followed by local radiotherapy. In many cases, e.g. when the cancer is too advanced or the patient's general condition does not allow for the implementation of other treatment, the only possible method is radiotherapy. However, radiation therapy is not always effective enough, mainly due to the inherent or acquired radioresistance of the cancer cells. Therefore, new methods for increasing the sensitivity of cancer cells to ionizing radiation and, at the same time, protecting normal cells against its harmful effects are needed. In this aspect, low-molecular compounds of natural origin are of great interest. Literature data indicate that some compounds from the group of polyphenols may enhance the cytotoxic effect of ionizing radiation on several types of cancer cells. Therefore, the study aimed to evaluate and compare the effect of 3 compounds, stilbene derivatives, in combination with ionizing radiation on breast cancer cells.

The research was conducted on two breast cancer cell lines: the estrogen-dependent MCF-7 and the hormone-independent HCC38 lines. The tested compounds were resveratrol and two of its analogs: piceatannol and piceid.

This study evaluated the cytotoxic properties of stilbene derivatives in combination with ionizing radiation on selected breast cancer cells. The stage of apoptosis was assessed, and the pathways involved in its induction were indicated. It was also checked whether the mechanisms of the antioxidant defense of cells are activated by reactive oxygen species generated by radiation. In addition, based on expression levels of Rad51 and H2AX, the induction of repair of damaged DNA was determined.

Obtained results showed that stilbene derivatives used in low concentrations (2.5 – 5  $\mu\text{M}$ ) did not exhibit cytotoxic effects against both of the tested cell lines. The cytotoxic effect was observed at higher concentrations of the tested compounds. MCF-7 cells were more sensitive than HCC38 to the compounds used alone or combined with ionizing radiation due to the weaker activation of the antioxidant defense mechanism and induction of repair of damaged DNA.

The process of apoptosis, both in MCF-7 cells and in HCC38 cells, was activated by extrinsic and intrinsic pathways. In addition, the obtained results indicate that in the case of the MCF-7 cell line, the activation of programmed death occurs independently of the p53 protein.

The results obtained in the study clearly state that among the tested stilbene derivatives, resveratrol has the highest radiosensitizing properties, slightly weaker was piceatannol, while piceid possessed the lowest effectiveness.

The results obtained in the doctoral dissertation supplement and broaden the current knowledge on the potential use of stilbene derivatives as radiosensitizers in breast cancer treatment.

*Komarovskis Dominika*