

MOŻLIWOŚCI PRZECIWDZIAŁANIA OPORNOŚCI CHEMIOTERAPEUTYCZNEJ KOMÓREK RAKA JAJNIKA NA CISPLATYNĘ

THE POSSIBILITIES OF COUNTERACTING THE CHEMOTHERAPEUTIC
RESISTANCE OF OVARIAN CANCER CELLS TO CISPLATIN

Dominik BIEG, Ilona BEDNAREK

Zakład Biotechnologii i Inżynierii Genetycznej
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej w Sosnowcu
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Streszczenie: Rak jajnika jest jedną z głównych przyczyn zgonów spośród nowotworów ginekologicznych, mimo iż stanowi zaledwie 3% wszystkich nowotworów wykrywanych u kobiet. Jednym z powodów wysokiej śmiertelności jest oporność chemioterapeutyczna na cisplatinę. Celem artykułu jest przegląd informacji na temat możliwości przeciwdziałania oporności komórek raka jajnika na cisplatinę przez wybrane czynniki (moryna, miR-424-3p), w oparciu o poznane mechanizmy leżące u podstaw tego zjawiska.

U podłoża chemioporności znajduje się m.in. upośledzenie apoptozy komórek nowotworowych indukowanej przez cisplatinę, związane z zaburzeniem funkcji białek z rodziny BCL-2 oraz konstytutywną aktywacją czynnika transkrypcyjnego NF- κ B. W próbach przełamania oporności komórek raka jajnika na chemioterapeutyki wskazuje się zatem na potencjalne zastosowanie naturalnych substancji pochodzenia roślinnego, będących inhibitorami NF- κ B. Taką substancją jest moryna, związek zaliczany do flawonoidów. Ponadto, cząsteczką wartą uwagi w aspekcie chemioporności komórek nowotworowych na cisplatinę jest również wykazująca działanie antyapoptotyczne galektyna-3, której ekspresja jest indukowana przez NF- κ B. Galektyna-3 w swojej strukturze zawiera tzw. „motyw przeciwko śmierci”, który jest także charakterystyczny dla białek z rodziny BCL-2 i odpowiada za antyapoptotyczne działanie zarówno galektyny-3 jak i BCL-2. Poza czynnikami transkrypcyjnymi, takimi jak NF- κ B, w regulację ekspresji galektyny-3 są zaangażowane również mechanizmy epigenetyczne. Cząsteczka miR-424-3p wykazuje zdolność do hamowania ekspresji galektyny-3, ale oprócz tego, jest niezależnie wiązana z przeciwdziałaniem oporności chemioterapeutycznej niedrobnokomórkowego raka płuca. W związku z powyższym zasadnym wydaje się zwrócenie na nią uwagi w aspekcie możliwości przeciwdziałania zjawisku chemioporności komórek raka jajnika.

Próba zahamowania ekspresji galektyny-3 za pomocą różnych substancji w komórkach raka jajnika mogłaby doprowadzić do zwiększenia ich wrażliwości na cisplatynę i tym samym skutkować udoskonaleniem istniejących bądź też opracowaniem całkiem nowych strategii terapeutycznych w leczeniu tego nowotworu.

Słowa kluczowe: rak jajnika, oporność terapeutyczna, galektyna-3, flawonoidy, mikroRNA

Summary: Ovarian cancer is the leading cause of death in women, despite the fact that it accounts for only 3% of all female cancers. The reason for high mortality is chemotherapeutic resistance to cisplatin. The aim of this article is to review information on the possibility of counteracting the resistance of ovarian cancer cells to cisplatin by selected factors (morin, miR-424-3p), based on the mechanism underlying this phenomenon.

Chemoresistance is caused by the failure in the cisplatin-induced apoptosis of cancer cells, which is associated with dysfunction of the BCL-2 protein family and the constitutive activation of the transcription factor NF- κ B. In attempts to counteract the resistance of ovarian cancer cells to chemotherapy, the potential use of natural plant substances, that are NF- κ B inhibitors, is indicated. An example of such a substance is the flavonoid – morin. Another molecule worth to consider in relation to chemoresistance of tumour cells to cisplatin is galectin-3, which exhibits anti-apoptotic properties and which expression is induced by NF- κ B. Galectin-3 in its structure contains an anti-death motif, which is also characteristic of BCL-2 proteins family and is responsible for the anti-apoptotic effect of both galectin-3 and BCL-2. In addition to transcription factors such as NF- κ B, epigenetic mechanisms are also involved in the regulation of galectin-3 expression. The miR-424-3p molecule has the ability to inhibit galectin-3 expression, but is also independently associated with non-small-cell lung cancer chemoresistance counteracting. Consequently, it seems reasonable to draw attention to this molecule in terms of the potential for counteracting the chemoresistance of ovarian cancer cells. Attempting to suppress galectin-3 expression with various substances in ovarian cancer cells could increase their sensitivity to cisplatin. Finally, it may result in improvements in existing or developing the entirely new therapeutic strategies for the treatment of this cancer.

Keywords: ovarian cancer, drug resistance, galectin-3, flavonoids, microRNA

WSTĘP

Rak jajnika jest jedną z głównych przyczyn zgonów spośród nowotworów ginekologicznych, mimo iż stanowi zaledwie 3% wszystkich nowotworów wykrywanych u kobiet. Najwięcej przypadków odnotowuje się w Europie Środkowo-Wschodniej, a najmniej w Afryce Zachodniej [1, 8].

Pomimo bardzo pomyślnych prognoz terapeutycznych w przypadku wczesnych etapów rozwoju choroby, rak jajnika stanowi piątą w kolejności przyczynę zgonów z pośród nowotworów dotykających kobiet na świecie [9, 13]. Powodem takiego stanu rzeczy jest brak specyficznych symptomów we wczesnych stadiach choroby, trudna dostępność anatomiczna jajników, specyficzna kinetyka wzrostu guza (możliwa przedkliniczna faza utajona) oraz stosunkowo duża rzadkość wy-

stępowania (wspomniane 3%) [1]. W związku z powyższym, ponad 70% pacjentek jest diagnozowanych dopiero w zaawansowanym stadium choroby, co przekłada się na wartość wskaźnika 5-letniego przeżycia mniejszą niż 20-30% (przy uwzględnieniu przypadków poddanych leczeniu chirurgicznemu i chemioterapii). Natomiast, pośród kobiet u których nowotwór wykryto na wczesnym etapie rozwoju choroby, wskaźnik 5-letniego przeżycia wynosi 90% [1, 9]. Nieprzypadkowo więc rak jajnika bywa nazywany „cichym zabójcą”, a jego wczesna detekcja stanowi główny czynnik decydujący o sukcesie terapeutycznym. Obecne metody diagnostyczne nie są dostatecznie dobrze rozwinięte ani wystarczająco dokładne, stąd istnieje ciągła potrzeba poszukiwania nowych i dalszego rozwoju istniejących narzędzi [1, 9, 13].

Inną przyczyną wysokiej śmiertelności w przebiegu raka jajnika jest oporność chemioterapeutyczna oraz wysoki odsetek wznowy choroby. Zgodnie z zaleceniami Amerykańskiego Towarzystwa Onkologicznego (ang. *American Cancer Society*) oraz najnowszymi rekomendacjami Polskiego Towarzystwa Ginekologii Onkologicznej standardową formą terapii tego nowotworu jest postępowanie skojarzone, na które składa się leczenie chirurgiczne (cytoredukcja) oraz chemioterapia, obejmująca związki platyny (cisplatyna lub karboplatyna), wykazujące działanie proapoptotyczne na komórki nowotworowe oraz pochodne taksanu (paklitaksel lub docetaksel), które hamują podziały mitotyczne komórek nowotworowych [2, 3, 9, 13]. Około 20% pacjentek z pierwotnym rakiem jajnika wykazuje oporność na cytotoksyczne działanie związków platyny, co skutkuje szybką progresją nowotworu, doprowadzając ostatecznie do zgonu. U pozostałych 80% kobiet pomimo początkowo wysokiego wskaźnika odpowiedzi klinicznej po zastosowaniu chemioterapii opartej na związkach platyny i taksanu, mogą pojawiać się nawroty choroby. Ponowne zastosowanie powyższych związków w czasie wznowy, ujawnia nabytą oporność na te chemioterapeutyki, co w konsekwencji również prowadzi do zgonu pacjentki [9, 13].

Pomimo częstego występowania (wrodzonej lub nabytej) oporności oraz poważnych skutków ubocznych, cisplatyna i jej pochodne pozostają głównym chemioterapeutykiem stosowanym w leczeniu raka jajnika [3]. Jednocześnie oporność komórek tego nowotworu na cisplatynę, jest istotnym czynnikiem decydującym o niepowodzeniu stosowanych metod leczenia. Poszukiwanie możliwości przeciwdziałania temu niepożądanemu zjawisku stanowi ważny kierunek badań nad nowotworami jajników i w przyszłości pozwoli na udoskonalenie istniejących terapii [2, 3, 9, 13].

W świetle powyższych doniesień, celem przedstawionego artykułu jest przegląd informacji na temat możliwości przeciwdziałania oporności komórek raka jajnika na cisplatynę (w oparciu o poznane do tej pory mechanizmy leżące u podstaw tego zjawiska) poprzez wybrane czynniki (moryna i miR-424-3p) i tym samym wytyczenie nowych kierunków badań.

MECHANIZM OPORNOŚCI NA CISPLATYNĘ W RAKU JAJNIKA

Cis-diaminadichloroplatyna(II) (ang. *cis-diamminedichloroplatinum(II)*, CDDP), znana również jako cisplatyna, jest od roku 1978 stosowana w leczeniu wielu nowotworów m.in.: płuca, głowy i szyi, pęcherza moczowego, jądra oraz jajnika [6, 11].

Mechanizm cytotoksycznego działania cisplatyny i jej pochodnych polega na aktywnym wychwycie do wnętrza komórki, a następnie kowalencyjnym związaniu z DNA – tj. utworzeniu adduktów, które poza hamowaniem procesu replikacji, inicjują również powstanie wiązań krzyżowych w obrębie jednej nici lub pomiędzy obydwoma niciami helisy DNA oraz pomiędzy DNA a białkami, co finalnie skutkuje utworzeniem jedno- lub dwuniciowych pęknięć. Uszkodzenia DNA aktywują mechanizmy naprawy, a w przypadku gdy są one zbyt rozległe – indukują apoptozę komórki [4, 11, 16]. Dodatkowo cisplatyna może również powodować uszkodzenia mitochondriów, co także prowadzi komórkę na drogę apoptozy [4].

Na przestrzeni lat wykazano, że oporności komórek nowotworowych (w tym raka jajnika) na cisplatynę nie da się wyjaśnić jednym, prostym mechanizmem. W związku z tym czynniki wywołujące chemioporność podzielono na 4 kategorie. Pierwsza z nich (tzw. „*pre-target*”) obejmuje wszystkie mechanizmy, których funkcjonowanie sprowadza się do redukcji liczby uszkodzeń DNA. Chodzi tutaj m.in. o aktywność białek transportowych, zapobiegających akumulacji cisplatyny w komórce poprzez hamowanie jej wnikania do cytoplazmy i jądra oraz poprzez indukcję jej odpływu do przestrzeni pozakomórkowej. W przypadku nadmiernego usuwania cisplatyny z komórki wskazuje się m.in. na rolę białka oporności wielolekowej (ang. *Multidrug Resistance Protein 1*, MDR1), którego ekspresja w przypadku raka jajnika często ulega podwyższeniu i co jest łączone z jego chemiopornością. Grupa czynników typu „*pre-target*” zawiera również cząsteczki wiążące i neutralizujące cisplatynę we wnętrzu komórki, np.: glutation [4, 11, 16].

Do drugiej kategorii czynników (tzw. „*on-target*”) zalicza się wszystkie zjawiska, dzięki którym komórki nowotworowe mają większą zdolność do ignorowania lub naprawy już występujących uszkodzeń DNA. Takie uszkodzenia mogą być wykrywane m.in. przez białka systemu naprawy niesparowanych zasad (ang. *Mismatch Repair System*, MMR), które jednak nie mają faktycznej zdolności naprawy zaistniałych defektów. W komórkach raka jajnika opornego na cisplatynę, często obserwuje się obniżony poziom ekspresji białek MMR. Jednakże kiedy uszkodzenia DNA zostaną już wykryte, dochodzi do aktywacji systemu naprawy przez wycinanie nieprawidłowego nukleotydu (ang. *Nucleotide Excision Repair system*, NER). Podwyższona ekspresja białek wchodzących w skład NER również wiązana jest z opornością komórek nowotworowych na cisplatynę [4, 16].

W trzeciej grupie czynników wywołujących chemioporność (tzw. „*post-target*”) znajdują się procesy zmniejszające podatność komórek na apoptozę (indukowaną

uszkodzeniami DNA), głównie poprzez deregulację ścieżek sygnałowych związanych z naturalną śmiercią komórek. Bardzo ważną rolę odgrywa tutaj białko P53, znane również jako „strażnik genomu”, które kontroluje cykl komórkowy oraz indukuje apoptozę komórek posiadających uszkodzenia DNA [16]. W 50% przypadków raka jajnika P53 występuje w formie zmutowanej, co jest wiązane z gorszą odpowiedzią kliniczną na leczenie cisplatyną. Za regulację apoptozy odpowiadają również białka z rodziny BCL-2, wykazujące zarówno działanie pro- jak i antyapoptotyczne i których ekspresja również może ulegać (odpowiednio) obniżeniu lub podwyższeniu, indukując oporność chemioterapeutyczną komórek nowotworowych [4, 16].

Ostatnia kategoria (tzw. „*off-target*”) obejmuje czynniki niebędące bezpośrednio związane z mechanizmem działania cisplatyny, a jedynie pośrednio – poprzez zwiększanie zdolności komórek nowotworowych do kompensowania negatywnych skutków działania leku. Zalicza się tutaj m.in. zjawisko autofagii, w którym organelle komórkowe i składniki cytoplazmy są trawione wewnątrz lizosomów. Ten proces kataboliczny może być aktywowany pod wpływem czynników stresowych i ma za zadanie umożliwić komórce pozyskanie energii ze zbędnych elementów, w celu przetrwania dłuższego okresu czasu w niesprzyjających warunkach. Innym mechanizmem zaliczanym do tej kategorii czynników jest zmiana fenotypu komórek nowotworowych z epitelialnego na mezenchymalny. Proces ten polega m.in. na utracie polarności i regularnego kształtu komórek, w zamian zwiększając ich ruchliwość, a tym samym potencjał metastatyczny. Wzmocniona aktywacja zarówno autofagii jak i tranzycji epitelialno-mezenchymalnej jest również wiązana z chemiopornością komórek nowotworowych [4, 16].

Pomimo coraz lepszego zrozumienia procesów związanych z opornością komórek rakowych, pełne wyjaśnienie mechanizmów leżących u podstaw tego zjawiska wymaga dalszego zbadania [4]. Szczególny nacisk kładzie się na czynniki typu „*post-target*” odpowiadające za upośledzenie apoptozy, jako że to właśnie zaprogramowana śmierć komórek nowotworowych jest głównym i najważniejszym efektem działania cisplatyny. Poza zaangażowaniem w chemioporność białka P53 oraz białek z rodziny BCL-2, podkreśla się również znaczenie apoptotycznych ścieżek sygnałowych m.in.: MAPK (ang. *Mitogen-Activated Protein Kinase* – kinaza białkowa aktywowana mitogenami) oraz NF- κ B (ang. *Nuclear Factor κ B* – jądrowy czynnik transkrypcyjny κ B) [7, 11, 23]. Zaburzoną regulację NF- κ B odnotowano w przypadku wielu nowotworów, jednocześnie obserwując, że konstytutywna aktywacja NF- κ B ma związek z opornością chemioterapeutyczną (tę zależność opisano m.in. także w komórkach raka jajnika CAOV-3 opornych na cisplatynę). Ponadto wykazano, że inhibicja NF- κ B skutkuje zwiększeniem przeciwnowotworowego efektu cisplatyny na komórki linii opornych na jej działanie [11]. W związku z powyższym sugeruje się jednoczesne stosowanie cisplatyny w połączeniu z inhibitorami NF- κ B w celu uzyskania lepszego efektu terapeutycznego [23].

MORYNA JAKO INHIBITOR NF-κB O DZIAŁANIU PRZECIWNOWOTWOROWYM

W próbach przełamania oporności komórek nowotworowych na chemioterapeutyki wskazuje się na potencjalne zastosowanie naturalnych substancji pochodzenia roślinnego, które działałyby jako inhibitory NF-κB. Terapia złożona z cisplatyny oraz związku hamującego NF-κB (podawanych jednocześnie), może przynieść korzystne efekty terapeutyczne [23]. Przykładem substancji, o potwierdzonym działaniu inhibującym NF-κB i tym samym zwiększającym wrażliwość komórek nowotworowych opornych na cisplatynę, jest kurkumina. Jednakże związek ten charakteryzuje się słabą rozpuszczalnością w wodzie i związaną z tym faktem słabą biodostępnością, co ogranicza jej dystrybucję w organizmie [11]. Działanie hamujące NF-κB (przy zdecydowanie lepszej rozpuszczalności w wodzie) wykazują również flawonoidy z grupy flawonoli m.in. kemferol oraz dwa izomery strukturalne: kwercetyna i moryna. Z pośród tych trzech substancji największą aktywność inhibującą NF-κB posiada moryna [10].

OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA FLAWONOIDÓW I MORYNY

Rośliny produkują wiele drobnocząsteczkowych związków będących m.in. elementami mechanizmów obronnych. Wśród nich na uwagę zasługują flawonoidy – metabolity wtórne z grupy polifenoli, szeroko rozpowszechnione w całym królestwie roślin. Flawonoidy wykazują zróżnicowane efekty farmakologiczne m.in.: przeciwzapalne, przeciwutleniające, przeciwhepatotoksyczne i przeciwwrzodowe oraz hamujące aktywność licznych enzymów [10, 17, 20]. Podkreśla się również ich działanie przeciwnowotworowe – zarówno w profilaktyce jak i wspomaganiu leczenia m.in. poprzez indukowanie apoptozy komórek rakowych [7]. Flawonoidy są regularnie spożywane dzięki obecności w owocach, warzywach, herbacie, czerwonym winie, orzechach, nasionach, ziołach czy przyprawach, które są stałym elementem diety. Ich dodatkową zaletą są niskie koszty pozyskiwania oraz minimalne skutki uboczne dla organizmu. To wszystko sprawia, że naturalnie występujące związki chemiczne jak flawonoidy są atrakcyjnym obiektem badań farmakologicznych [17].

Moryna (3,5,7,2',4'-pentahydroksyflawon), należąca do flawonoidów z grupy flawonoli, po raz pierwszy została wyizolowana z gałęzi morwy białej (*Morus alba* L.) oraz czerwonego wina. Jest związkiem obecnym w roślinach z rodziny morwowatych (*Moraceae*) np.: żółtnicy pomarańczowej (*Maclura pomifera*), ale także w migdałowcu pospolitym (*Prunus dulcis*) z rodziny różowatych (*Rosaceae*), słodkim kasztanie (*Castanea sativa*) z rodziny bukowatych (*Fagaceae*) oraz gujawię pospolitej (*Psidium guajava* L.) z rodziny mirtowatych (*Myrtaceae*). Moryna

wykazuje działanie farmakologiczne poprzez właściwości przeciwzapalne i przeciwhepatotoksyczne, zdolność do wymiatania wolnych rodników (ochrona DNA przed uszkodzeniami), inhibicję oksydazy ksantynowej, zapobieganie utlenianiu lipoprotein o niskiej gęstości oraz aktywność przeciwnowotworową [7, 10, 17, 20]. W związku z powyższym moryna jest wykorzystywana w leczeniu chorób sercowo-naczyniowych, cukrzycy, chorób neurodegeneracyjnych oraz nowotworów [20].

MECHANIZM PRZECIWNOWOTWOROWEGO DZIAŁANIA MORYNY

Przeciwnowotworowe działanie moryny zostało potwierdzone w badaniach m.in. poprzez hamowanie proliferacji komórek linii: raka płaskonabłonkowego jamy ustnej, chłoniaka oraz raka jelita grubego, jak i również poprzez inhibicję wzrostu ludzkich komórek raka jelita grubego COLO205 wszczepionych do myszy z upośledzoną odpornością [10, 17, 20]. Dokładny efekt przeciwnowotworowego działania moryny nie został jeszcze w pełni wyjaśniony. Jednakże do tej pory wykazano, że moryna m.in.: indukuje aktywność białka P21, kaspaz i kinaz aktywowanych stresem, a także hamuje aktywność lipooksygenazy-1, cyklooksygenazy-2 (w makrofagach), glikoproteiny P i receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksysomów oraz zapobiega aktywacji AKT (ang. *AKT serine/threonine kinase* – kinaza serynowo-treoninowa AKT, będąca mediatorem ścieżki sygnałowej o działaniu antyapoptotycznym) i uwolnieniu z komórek tucznych prozapalnych cytokin, takich jak: interleukina-6, interleukina-8, TNF- α (ang. *Tumor Necrosis Factor* – czynnik martwicy nowotworu) [10]. Ponadto udowodniono, że moryna hamuje aktywację NF- κ B indukowaną przez czynniki prozapalne i kancerogeny: TNF- α , ceramid, lipopolisacharyd, interleukinę-1, 12-mirystynian-13-octan forbolu oraz nadtlenek wodoru [10, 17, 20].

NF- κ B (czynnik transkrypcyjny zaangażowany m.in. w proliferację komórek, stan zapalny i kancerogenezę) jest heterodimerycznym, cytoplazmatycznym kompleksem białkowym zbudowanym z P50 (rodzina białek R) oraz P65 (rodzina białek NF- κ B). W formie nieaktywnej NF- κ B jest utrzymywany w cytoplazmie dzięki dodatkowej podjednostce inhibitorowej I κ B α (ang. *NF- κ B Inhibitor α* – inhibitor α jądrowego czynnika transkrypcyjnego κ B). Podczas aktywacji pod wpływem prozapalnych czynników i kancerogenów dochodzi do (zależnej od fosforylacji) degradacji I κ B α , co skutkuje uwolnieniem aktywnej formy NF- κ B i jej translokacją do jądra komórkowego, gdzie jako czynnik transkrypcyjny reguluje ekspresję genów. Fosforylacja I κ B α (skutkującą jego degradacją) zachodzi pod wpływem kinazy I κ B α (zwanej IKK; ang. *I κ B α Kinase* – kinaza inhibitora α jądrowego czynnika transkrypcyjnego κ B) [10, 11].

Hamowanie aktywacji NF- κ B (stymulowanej przez wymienione powyżej czynniki prozapalne i kancerogeny) przez morynę jest niezależnie od typu komórki i polega na inhibicji IKK, co zapobiega degradacji I κ B α i translokacji NF- κ B do jądra komórkowego, gdzie czynnik ten odpowiada m.in. za aktywację genów związanych z przetrwaniem, proliferacją i inwazyjnością komórek nowotworowych. Tym samym moryna może wzmacniać działanie proapoptotyczne w komórkach nowotworowych, indukowane przez TNF- α oraz czynniki chemioterapeutyczne (paklitaksel, dokсорubicyna) [10,17,20]. Ponadto wykazano również, że w przypadku raka jelita grubego moryna indukuje apoptozę poprzez hamowanie ekspresji antyapoptotycznego białka BCL-2 (w wyniku supresji ścieżki sygnałowej AKT), a także indukcję kaspazy-8, kaspazy-9 i kaspazy-3 [7].

GALEKTYNA-3 I JEJ ZWIĄZEK Z OPORNOŚCIĄ KOMÓREK NOWOTWOROWYCH NA CISPLATYNĘ

Cząsteczką wartą uwagi w aspekcie chemiopoorności komórek nowotworowych na cisplatinę jest również galektyna-3, która wykazuje strukturalne podobieństwo do BCL-2 i której ekspresja jest regulowana przez NF- κ B. Galektyny są rodziną białek wiążących węglowodany o szczególnie wysokim powinowactwie do β -galaktozydów. Ich cechą charakterystyczną jest obecność w swojej strukturze konserwatywnej domeny rozpoznającej węglowodany CRD (ang. *Carbohydrate Recognition Domain*). Dotychczas wyizolowano i zidentyfikowano 15 białek z rodziny galektyn, które (ze względu na różnice w budowie) sklasyfikowano w 3 grupach:

- prototypowej (1 domena CRD);
- z powtórzeniami tandemowymi (2 domeny CRD);
- chimerowej (1 domena CRD połączona z długą domeną N-końcową) [5, 21].

Jak dotąd, jedynym przedstawicielem grupy chimerowej jest galektyna-3, będąca białkiem o masie pomiędzy 29- a 35-kDa, powstałym w wyniku ekspresji genu *LGALS3* [21].

BUDOWA I FUNKCJE GALEKTYNY-3

Synteza galektyny-3 odbywa się w cytoplazmie, skąd może ulegać translokacji do jądra komórkowego oraz sekrecji na powierzchnię błony komórkowej lub do przestrzeni pozakomórkowej [21]. Różnorodność lokalizacji komórkowych, w których może występować galektyna-3, przedkłada się na jej wielofunkcyjność poprzez zaangażowanie w różnorodne procesy takie jak: adhezja typu komórka-komórka oraz komórka-macierz zewnątrzkomórkowa; wzrost, proliferacja i różnicowanie komórek; regulacja cyklu komórkowego; sygnalizacja komórkowa;

embriogeneza; apoptoza; angiogeneza; regulacja odpowiedzi immunologicznej; a nawet składanie mRNA [5, 21].

W budowie galektyny-3 można wyróżnić 3 strukturalne i funkcjonalne domeny:

- domena N-końcowa – obejmuje 12-aminokwasową (unikatową i konserwatywną dla rodziny galektyn) sekwencję zawierającą miejsce fosforylacji (serynę); bierze udział w sekrecji oraz translokacji do jądra komórkowego, a także w sygnalizacji komórkowej;
- domena kolagenopodobna – powtarzająca się sekwencja bogata w glicynę, prolinę i tyrozynę;
- domena C-końcowa – zawiera 140-aminokwasową domenę CRD oraz tzw. motyw przeciwko śmierci (ang. *anti-death motif*) NWGR (asparagina „N”, tryptofan „W”, glicyna „G”, arginina „R”), który jest również charakterystyczny dla białek z rodziny BCL-2 i odpowiada za antyapoptotyczne działanie zarówno galektyny-3 jak i BCL-2 [5, 12, 18, 21].

REGULACJA EKSPRESJI GALEKTYNY-3

W warunkach fizjologicznych ekspresję galektyny-3 odnotowuje się głównie w komórkach układu immunologicznego (aktywowanych makrofagach, bazoofilach, komórkach tucznych), komórkach nabłonkowych oraz neuronach czuciowych [21]. Jednakże w warunkach patologicznych m.in. w kancerogenezie, dochodzi do zaburzenia jej ekspresji i/lub zmiany lokalizacji komórkowej (np.: przemieszczenie z jądra komórkowego do cytoplazmy często wiązane jest ze zmianą fenotypu komórek nowotworowych z łagodnego na złośliwy). W trakcie onkogenezy galektyna-3 najprawdopodobniej bierze udział w progresji, angiogenezie i metastazie poprzez deregulację procesów komórkowych, właściwych dla lokalizacji komórkowej w której się znajduje:

- nadekspresja frakcji cytoplazmatycznej skutkuje promocją transformacji nowotworowej, progresją cyklu komórkowego oraz inhibicją apoptozy;
- frakcja jądrowa odgrywa rolę w regulacji ekspresji genów związanych z rozwojem nowotworu, np.: cykliny D1;
- frakcja zewnątrzkomórkowa wzmacnia adhezję komórek nowotworowych do macierzy zewnątrzkomórkowej oraz promuje ucieczkę guza z ogniska pierwotnego [5, 21].

Regulacja ekspresji galektyny-3 może odbywać się zarówno na poziomie transkrypcji jak i translacji, za pomocą różnych czynników i mechanizmów. Gen *LGALS3* znajduje się na chromosomie 14 w *locus* q21–q22. W jego regionie promotorowym obecnych jest kilka miejsc wiążących różne elementy regulatorowe:

- 5 kaset GC będących miejscami wiązania czynnika Sp1;
- 5 motywów CRE (ang. *cAMP-dependent Response Element* – cAMP-zależny element regulujący transkrypcję);

- 4 miejsca AP-1-podobne oraz 1 miejsce AP-4-podobne;
- 2 miejsca NF- κ B-podobne;
- element indukowany onkogenem SIS;
- sekwencja typu konsensus dla czynników transkrypcyjnych posiadających motyw helisa-pętla-helisa [21].

Czynnik transkrypcyjny NF- κ B odgrywa kluczową rolę w odpowiedzi zapalnej jak i również w oporności komórek nowotworowych na apoptozę. W komórkach chłoniaka z limfocytów T zainfekowanych wirusem ludzkiej białaczki z komórek T wykazano, że NF- κ B oddziałując z promotorem *LGALS3*, powoduje podwyższenie poziomu ekspresji galektyny-3. Z kolei w komórkach glejaka wielopostaciowego zaobserwowano, że zastosowanie inhibitora NF- κ B skutkuje obniżeniem ekspresji *LGALS3*. Podobne działanie wykazuje Nucling – białko indukowane stresem i powiązane z apoptosomami – który blokując aktywację NF- κ B, powoduje zmniejszenie ekspresji galektyny-3 i tym samym indukuje apoptozę komórek [21].

Poza czynnikami transkrypcyjnymi, w regulację ekspresji *LGALS3* są zaangażowane również mechanizmy epigenetyczne, takie jak metylacja DNA czy regulatorowe cząsteczki miRNA [14, 21]. W wielu nowotworach wykazano, że metylacja regionu promotorowego genu kodującego galektynę-3, skutkuje zahamowaniem jej ekspresji. Jednocześnie, brak metylacji w obszarze promotorowym *LGALS3* koreluje z wykrywalną ekspresją białka. Należy jednak zaznaczyć, że odnotowano również przypadki, kiedy pomimo braku metylacji promotora galektyny-3, nie obserwowano jej ekspresji. Wskazuje to na fakt, że ekspresja *LGALS3* nie podlega regulacji przez jeden określony czynnik, ale także może zależeć od poziomu zróżnicowania komórek lub typu tkanki – miejsca ekspresji [21]. Jako cząsteczkę miRNA zdolną do regulowania ekspresji galektyny-3 proponuje się miR-424-3p, która w związku z homologią do mysiej cząsteczki miR-322 występuje w literaturze również pod tą drugą nazwą [14].

ZWIĄZEK GALEKTYNY-3 Z APOPTOZĄ I OPORNOŚCIĄ CHEMIOTERAPEUTYCZNĄ KOMÓREK NOWOTWOROWYCH

Zdolność galektyny-3 do wpływania na proces apoptozy jest coraz częściej rozpatrywana w kontekście oporności chemioterapeutycznej komórek nowotworowych. Warto w tym miejscu zwrócić uwagę na fakt, że wg. niektórych danych literaturowych dotyczących raka prostaty, wpływ tego białka na proces zaprogramowanej śmierci komórki, ściśle zależy od jego lokalizacji komórkowej. Cytoplazmatyczna frakcja galektyny-3 wykazuje działanie antyapoptotyczne, w przeciwieństwie do frakcji jądrowej, która stymuluje zaprogramowaną śmierć komórek. Jednakże, w przypadku raku jajnika na dzień dzisiejszy brak jest jakichkolwiek tego typu doniesień. Mechanizm antyapoptotycznego działania galektyny-3 polega na zapobieganiu uszkodzeniom błony mitochondrialnej. W wyniku tego nie dochodzi do zakłócenia transportu elektronów i utraty potencjału mito-

chondrialnego, a w konsekwencji uwolnienia cytochromu c i aktywacji kaspazy-9 i kaspazy-3 [5].

W kilku typach nowotworów zaobserwowano, że galektyna-3 hamuje apoptozę komórek wywołaną przez staurosporynę, TNF- α , tlenek azotu oraz chemioterapeutyki, takie jak: cisplatyna i etopozyd. Co więcej, substytucja glicyny na alaninę w motywie NWGR, skutkuje utratą oporności komórek nowotworowych na apoptozę indukowaną przez cisplatynę [5]. Mechanizm antyapoptotycznego działania galektyny-3 na komórki nowotworowe poddane działaniu chemioterapeutyków nie został w pełni wyjaśniony. Jednakże zakłada się, że istotne znaczenie mają procesy takie jak:

- fosforylacja galektyny-3 – nieulegające fosforylacji (w wyniku substytucji seryny-6 na alaninę) formy tego białka, nie wykazują efektu antyapoptotycznego na komórki poddane działaniu cisplatyny;
- translokacja galektyny-3 – w odpowiedzi na działanie cisplatyny lub fluorouracylu dochodzi do translokacji galektyny-3 z jądra komórkowego do cytoplazmy i w konsekwencji do inhibicji apoptozy; translokacja jest zablokowana w przypadku niefosforylowanej formy białka;
- regulacja potencjału mitochondrialnego i kaskady kaspaz – depolaryzacja błony mitochondrialnej oraz uwolnienie cytochromu c i aktywacja kaspaz, będące skutkiem działania cisplatyny, są zahamowane w obecności galektyny-3;
- regulacja ścieżek sygnałowych związanych z przeżyciem/śmiercią komórek – np.: fosforylowana galektyna-3 zwiększa aktywność kinaz aktywowanych mitogenami np.: pERK, które są zaangażowane w regulację stabilności mitochondrialnej i apoptozę [5].

Niewątpliwy związek galektyny-3 z opornością komórek nowotworowych na chemioterapeutyki, dostarcza możliwość rozwoju i udoskonalania istniejących strategii leczenia poprzez zastosowanie cząsteczek hamujących ekspresję i aktywność tego białka [5, 21].

CZĄSTECZKA miR-424-3P JAKO INHIBITOR EKSPRESJI GALEKTYNY-3 PRZECIWDZIAŁAJĄCY OPORNOŚCI CHEMIOTERAPEUTYCZNEJ KOMÓREK NOWOTWOROWYCH

Cząsteczka miR-424-3p (obok miR-424-5p) jest jednym z dwóch podtypów miR-424. W genomie ludzkim znajduje się co prawda tylko jeden gen kodujący miR-424, ale w wyniku procesu dojrzewania może powstać jeden z dwóch podtypów molekularnych, nazywanych: miR-424-3p oraz miR-424-5p, w zależności od tego z którego końca cząsteczki pre-miRNA pochodzi (odpowiednio 3' lub 5') [13, 19].

Zdolność miR-424-3p (która z powodu homologii z mysią cząsteczką miR-322 występuje w publikacjach również pod tą drugą nazwą) do hamowania ekspresji *LGALS3* została opisana w literaturze [14], w związku z czym celowym wydaje się zwrócenie na nią uwagi w aspekcie możliwości przeciwdziałania chemioporności komórek nowotworowych (w tym raka jajnika) związanej z galektyną-3. Ponadto, pomijając fakt regulacji ekspresji *LGALS3* przez miR-424-3p, cząsteczka tego miRNA jest również wiązana z opornością chemioterapeutyczną różnych nowotworów [15,22]. W niedrobnokomórkowym raku płuca wykazano, że zarówno miR-424-3p jak i -5p działa supresyjnie na proliferację, migrację i inwazyjność komórek nowotworowych. Jednakże (tylko) podtyp -3p dodatkowo zwiększa wrażliwość komórek opornych na cisplatynę i paklitaksel [22]. Inne badania wskazują, że miR-424 (bez doprecyzowania podtypu) przeciwdziała oporności komórek przewlekłej białaczki szpikowej na imatynib oraz chemioporności komórek raka sutka [15, 22]. Powyższe dane wskazują miR-424-3p jako potencjalny punkt uchwytu w przeciwdziałaniu oporności komórek nowotworowych na leki cytostatyczne [22].

OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA CZĄSTECZEK miRNA

Odkryte w 1993 roku (u *Caenorhabditis elegans*) cząsteczki mikroRNA (ang. *microRNA* – miRNA) są 18-25-nukleotydowymi (przeciętnie około 20-22-nukleotydowymi), niekodującymi RNA, wysoce konserwatywnymi pomiędzy gatunkami i zaangażowanymi w posttranskrypcyjną regulację ekspresji genów [1, 9, 13]. Działanie miRNA polega na hamowaniu ekspresji genów poprzez wiązanie do 3'UTR (ang. *3' Untranslated Region* – region 3' niepodlegający translacji) docelowej cząsteczki mRNA i indukcję jej degradacji lub zablokowanie translacji [19]. Z uwagi na fakt, że miRNA nie wymaga całkowitej komplementarności do docelowego mRNA, jedna cząsteczka miRNA może regulować ekspresję wielu mRNA i jednocześnie jedna cząsteczka mRNA może być kontrolowana przez wiele miRNA [9, 13, 19]. Szacuje się, że geny kodujące miRNA stanowią około 1% – 5% ludzkiego genomu i regulują co najmniej 30% genów kodujących białka [9].

Geny kodujące miRNA są transkrybowane w jądrze komórkowym przy udziale polimerazy RNA II, czego efektem jest powstanie długich cząsteczek pri-miRNA (ang. *primary-miRNA* – pierwotne miRNA). Pri-miRNA tworzą struktury typu szpilki do włosów, podlegające dalszej obróbce przez enzymy DROSHA (z rodziny RNaz III) i PASHA do około 70-nukleotydowych cząsteczek pre-miRNA (ang. *precursor-miRNA* – prekursorowe miRNA). Pre-miRNA, również tworzące strukturę typu szpilki do włosów, są eksportowane do cytoplazmy przez eksportynę-5, gdzie podlegają hydrolizie przez enzym DICER (podobnie jak DROSHA należący do rodziny RNaz III) do dojrzałych, około 22-nukleotydowych, dwuniciowych cząsteczek. Jedna z nici jest następnie wbudowywana do

kompleksu RISC (ang. *RNA-Induced Silencing Complex* – kompleks wyciszający, indukowany przez RNA) i na zasadzie komplementarności wyszukuje docelową cząsteczkę mRNA. Finalnie, do RISC dołącza się również docelowa cząsteczką mRNA, która następnie ulega degradacji lub pozostaje związana z kompleksem przez co nie dochodzi do translacji [13, 19].

ZNACZENIE CZĄSTECZEK miRNA W KANCEROGENEZIE JAJNIKA

Cząsteczki miRNA wpływają praktycznie na wszystkie procesy komórkowe m.in.: proliferację i różnicowanie komórek, apoptozę, czy przebieg cyklu komórkowego, w związku z czym są jednocześnie nierozzerwalnie powiązane z kancerogenezą [13]. W nowotworach ekspresja miRNA ulega zaburzeniu, przez co mogą one pełnić rolę bądź to supresorową (poprzez hamowanie ekspresji mRNA onkogenów), bądź onkogeną (poprzez hamowanie ekspresji mRNA genów supresorowych) [1,9,13]. Szacuje się, że około 50% poznanych miRNA jest powiązanych z kancerogenezą [9, 13]. Wykazano, że miRNA są ważnym elementem onkogennych ścieżek sygnałowych np.: onkogeny RAS (H-, K-, i N-RAS) w regionie 3'UTR zawierają miejsca wiązania cząsteczek miRNA z rodziny LET-7, których ekspresja w kancerogenezie różnych nowotworów ulega obniżeniu [9].

W raku jajnika ekspresja miRNA również zostaje zaburzona, co ma istotne znaczenie w deregulacji cyklu komórkowego, proliferacji i apoptozy, tym samym wpływając na progresję, metastazę i oporność chemioterapeutyczną komórek nowotworowych [9, 13]. Poszukiwanie czułych i specyficznych markerów w grupie cząsteczek miRNA jest konieczne i może przyczynić się wcześniejszej detekcji choroby wśród pacjentek (w mniej zaawansowanych stadiach), łatwiejszego rozpoznawania typu histologicznego nowotworu oraz lepszego monitorowania odpowiedzi na chemioterapie, w konsekwencji zwiększając wartość wskaźnika 5-letniego przeżycia. Sugeruje się nawet, że markery wywodzące się z grupy miRNA, w przypadku raka jajnika, są bardziej czułe i swoiste niż markery należące do pozostałych rodzajów cząsteczek aktywnych biologicznie [9]. Należy również pamiętać o tzw. „krążących” cząsteczkach miRNA, które są obecne w krwi obwodowej i charakteryzują się dużą stabilnością dzięki związaniu z kompleksami białkowymi lub wbudowaniu do tzw. mikropęcherzyków błonowych (ang. *microvesicles*) np.: egzosomów, które chronią je przed działaniem RNaz. Dzięki temu „krążące” miRNA stanowią duży potencjał diagnostyczny i prognostyczny, a jednocześnie metoda ich pozyskiwania jest bezinwazyjna [13]. Przykładem miRNA, które ulegają nadekspresji w nowotworach jajnika są: miR-141, miR-200a, miR-200b, i miR-200c. Z kolei obniżoną ekspresję odnotowuje się m.in. w przypadku: miR-125b1, miR-140, miR-145, i miR-199a. Należy tutaj zwrócić uwagę na miR-140, którego gen jest zlokalizowany w *locus* 6q22, które to *locus* w raku jajnika bardzo często ulega delecji [9].

MiRNA poza spełnianiem roli markerów biologicznych mogą być obiektem terapii antynowotworowych lub same w sobie stanowić cząsteczki terapeutyczne. Przywracanie ich właściwego poziomu ekspresji może odbywać się za pomocą mimetyków miRNA (kiedy celem jest podniesienie ekspresji) lub antysensowych miRNA (kiedy ekspresja ma ulec obniżeniu). Aktualnie w pierwszej fazie badań klinicznych znajduje się cząsteczka o nazwie MRX34, która jest mimetykiem miR-34 i jednocześnie pierwszym lekiem przeciwnowotworowym z grupy miRNA (zastosowanie w terapii raka wątrobowokomórkowego) [9, 13]. Co ciekawe, wykazano, że ekspresja miR-34 również w przypadku raka jajnika jest znacząco obniżona, co czyni z niego potencjalny cel terapeutyczny dla MRX34 [13].

W kontekście wszystkich wcześniejszych rozważań zasadnym wydaje się podjęcie badań mających na celu zaprojektowanie i zastosowanie mimetyku miR-424-3p hamującego ekspresję galektyny-3, w celu modulacji oporności komórek raka jajnika na chemioterapię, w tym na cisplatynę.

PODSUMOWANIE

Pomimo nieustannego prowadzenia prac badawczych poruszających tematykę chorób nowotworowych, w dalszym ciągu są one jedną z głównych przyczyn zgonów. Nie inaczej jest w przypadku raka jajnika, który jest jednym z najbardziej śmiertelnych na całym świecie, mimo niewielkiego odsetka chorujących. Jedną z przyczyn powyższej prawidłowości jest, pojawiająca się bardzo często w przebiegu tego nowotworu, oporność na chemioterapię (wykorzystującą związki platyny), która jest standardową formą leczenia tej przypadłości. Istnieje zatem konieczność poszukiwania molekularnych mechanizmów stojących tak u podłoża nowotworzenia oraz progresji choroby, jak i udoskonalania stosowanych terapii, w tym poznania i eliminowania zjawiska chemioporności.

W ramach niniejszej pracy analizowano możliwość przeciwdziałania oporności komórek raka jajnika na cisplatynę w powiązaniu z antyapoptocycznym białkiem – galektyną-3. Zahamowanie ekspresji galektyny-3 przez naturalny flawonoid jakim jest moryna oraz mimetyk występującej w organizmie człowieka cząsteczki miR-424-3p, mogłoby doprowadzić do zwiększenia wrażliwości komórek nowotworowych na cisplatynę i potencjalnie mogłoby przyczynić się do udoskonalenia istniejących bądź opracowania całkiem nowych strategii terapeutycznych w leczeniu raka jajnika.

PODZIĘKOWANIA

Praca finansowana z: KNW-1-043/N/6/B oraz KNW-1-090/N/7/9

LITERATURA

- [1] BAIRI K, KANDHRO AH, GOURI A, MAHFOUD W, LOUANJLI N, SAADANI B, ET AL. Emerging diagnostic, prognostic and therapeutic biomarkers for ovarian cancer. *Cell Oncol* 2017; **40**: 105-18.
- [2] BASTA A, BIDZIŃSKI M, BIEŃKIEWICZ A, BLECHARZ P, BODNAR L, JACH R, ET AL. Rekomendacje Polskiego Towarzystwa Ginekologii Onkologicznej dotyczące diagnostyki i leczenia raka jajnika. [Http://ptgo.pl/wp-content/uploads/rekomenadcje_2015.pdf](http://ptgo.pl/wp-content/uploads/rekomenadcje_2015.pdf) n.d.: (dostęp: 11.07.2017).
- [3] DASARI S, TCHOUNWOU PB. Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol* 2014; **740**: 364-78.
- [4] DAVIS A, TINKER A, FRIEDLANDER M. "Platinum resistant" ovarian cancer: What is it, who to treat and how to measure benefit? *Gynecol Oncol* 2014; **133**: 624-31.
- [5] FUKUMORI T, KANAYAMA H, RAZ A. The role of galectin-3 in cancer drug resistance. *Drug Resist Updat* 2007; **10**: 101-8.
- [6] GALLUZZI L, SENOVILLA L, VITALE I, MICHELS J, MARTINS I, KEPPE O, ET AL. Molecular mechanisms of cisplatin resistance. *Oncogene* 2012; **31**: 1869-83.
- [7] HYUN HB, LEE WS, GO S IL, NAGAPPAN A, PARK C, HAN MH, ET AL. The flavonoid morin from Moraceae induces apoptosis by modulation of Bcl-2 family members and Fas receptor in HCT 116 cells. *Int J Oncol* 2015; **46**: 2670-8.
- [8] KOUKOURA O, SPANDIDOS DA, DAPONTE A, SIFAKIS S. DNA methylation profiles in ovarian cancer: Implication in diagnosis and therapy (Review). *Mol Med Rep* 2014; **10**: 3-9.
- [9] MAHDIAN-SHAKIB A, DOROSTKAR R, TAT M, HASHEMZADEH MS, SAIDI N. Differential role of microRNAs in prognosis, diagnosis, and therapy of ovarian cancer. *Biomed Pharmacother* 2016; **84**: 592-600.
- [10] MANNA SK, AGGARWAL RS, SETHI G, AGGARWAL BB, RAMESH GT. Morin (3,5,7,2',4' Pentahydroxyflavone) Abolishes Nuclear Factor- κ B Activation Induced by Various Carcinogens and Inflammatory Stimuli, Leading to Suppression of Nuclear Factor- κ B Regulated Gene Expression and Up regulation of Apoptosis. *Clin Cancer Res* 2007; **13**: 2290-7.
- [11] OISO S, IKEDA R, NAKAMURA K, TAKEDA Y, AKIYAMA SI, KARIYAZONO H. Involvement of NF- κ B activation in the cisplatin resistance of human epidermoid carcinoma KCP-4 cells. *Oncol Rep* 2012; **28**: 27-32.
- [12] POKRYWKA M, LITYŃSKA A. Budowa i funkcje biologiczne galektyny-3. Część I. *Postępy Biol Komórki* 2010; **37**: 677-84.
- [13] PRAHM KP, NOVOTNY GW, HØGDALL C, HØGDALL E. Current status on microRNAs as biomarkers for ovarian cancer. *Apmis* 2016; **124**: 337-55.
- [14] RAMASAMY S, DURAISAMY S, BARBASHOV S, KAWANO T, KHARBANDA S, KUFEL D. The MUC1 and galectin-3 oncoproteins function in a microRNA-dependent regulatory loop. *Mol Cell* 2007; **27**: 922-1004.
- [15] RODRIGUEZ-BARRUECO R, NEKRITZ EA, BERTUCCI F, YU J, SANCHEZ-GARCIA F, ZELEKE TZ, ET AL. miR-424(322)/503 is a breast cancer tumor suppressor whose loss promotes resistance to chemotherapy. *Genes Dev* 2017; **31**: 553-66.
- [16] SAMUEL P, PINK RC, BROOKS SA, CARTER DR. MiRNAs and ovarian cancer: A miRiad of mechanisms to induce cisplatin drug resistance. *Expert Rev Anticancer Ther* 2016; **16**: 57-70.
- [17] SINHA K, GHOSH J, SIL PC. Anti-inflammatory Nutraceuticals and Chronic Diseases. *Adv Exp Med Biol* 2016; **928**: 453-71.
- [18] SONG L, TANG J WU, OWUSU L, SUN MZ, WU J, ZHANG J. Galectin-3 in cancer. *Clin Chim Acta* 2014; **431**: 185-91.
- [19] STĘPNIEWSKI J, JÓZKOWICZ A, DULAK J. Rola mikroRNA w reprogramowaniu komórek. *Postępy Biochem* 2013; **59**: 157-63.
- [20] VENU GOPAL J. Morin Hydrate: Botanical origin, pharmacological activity and its applications: A mini-review. *Pharmacogn J* 2013; **5**: 123-6.
- [21] WANG L, GUO X-L. Molecular regulation of galectin-3 expression and therapeutic implication in cancer progression. *Biomed Pharmacother* 2016; **78**: 165-71.

- [22] ZHANG M, ZENG J, ZHAO Z, LIU Z. Loss of MiR-424-3p, not miR-424-5p, confers chemoresistance through targeting YAP1 in non-small cell lung cancer. *Mol Carcinog* 2017; **56**: 821-32.
- [23] ZHU H, LUO H, ZHANG W, SHEN Z, HU X, ZHU X. Molecular mechanisms of cisplatin resistance in cervical cancer. *Drug Des Devel Ther* 2016; **10**: 1885-95.

Redaktor prowadzący – Michał Nowicki

Otrzymano: 29.09.2017

Przyjęto: 25.10.2017

Dominiak Bieg

Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Zakład Biotechnologii i Inżynierii Genetycznej

ul. Jedności 8 (Kampus B), 41-200 Sosnowiec

tel: (32) 364-12-57

e-mail: dominik.bieg@med.sum.edu.pl