

Received: 2013.09.05
Accepted: 2014.12.17
Published: 2015.01.28

Rola TUBB3 w odpowiedzi komórek nowotworowych na epotilony i taksany*

TUBB3 role in the response of tumor cells to epothilones and taxanes

Agnieszka Marczak, Aneta Rogalska

Katedra Termobiologii, Instytut Biofizyki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Streszczenie

W czasach zwiększonej zachorowalności na nowotwory i pojawiającej się bardzo często oporności na stosowane leki, niezwykle cenne są nowe dane na temat mechanizmów działania poszczególnych związków. Tematem artykułu są związki należące do grupy stabilizatorów mikrotubul – taksany i ich nowa generacja – epotilony. Ze względu na to, że ich molekularnym celem są mikrotubule, skupiono uwagę głównie na roli, jaką odgrywa nadekspresja jednego z izotypów tubuliny w odpowiedzi komórek nowotworowych, zwłaszcza raka jajnika. Na podstawie zebranych danych można stwierdzić, że jedną z przyczyn nieskuteczności taksanów jest oporność rozwijająca się w przypadku komórek wykazujących nadekspresję b-tubuliny klasy III (TUBB3). Epotilony natomiast, najprawdopodobniej ze względu na ich zdolność do wiązania się w równym stopniu z β -tubuliną klasy I i III są skuteczne w tych komórkach, co daje im przewagę nad taksanami. Należy także podkreślić rolę mikroRNA, czynników transkrypcyjnych oraz innych białek związanych z aktywacją mikrotubul w tworzeniu oporności na taksany i przełamywaniu tej oporności przez epotilony. Szczególnie ważne wydaje się powiązanie ekspresji TUBB3 oraz białek Glis, będących końcowymi efektorami szlaku Hedgehog, odpowiadającego m.in. za homeostazę komórek. Dzięki danym potwierdzającym, że nadekspresja Gli1 jest związana z obniżeniem odpowiedzi na chemioterapię udało się, po zastosowaniu odpowiedniego inhibitora, uwrażliwić komórki na epotilony.

Słowa kluczowe:

TUBB3 • epotilony • komórki nowotworowe

Summary

Because of increased incidence of cancer and the development of resistance after treatment with typical drugs, new insights into the mechanisms of action of individual compounds are extremely valuable. In this article, we focus on taxanes, drugs belonging to the group of microtubule stabilizers, and their new generation – epothilones. Facing the fact that the molecular target for these compounds are microtubules, our attention was focused primarily on the role of overexpression of one of tubulin isotypes in response of tumor cells, particularly ovarian cancer to treatment with these compounds. On the basis of the literature data it can be concluded that one reason for the ineffectiveness of taxane is the resistance growing in the case of overexpression of β -tubulin class III- (TUBB3). Epotilones, however, due to their ability to bind equally to β -tubulin class I and III are effective in these cells, giving them an advantage over taxanes. It is necessary to emphasize the role of mikroRNA, transcription factors and other proteins associated with the activation of microtubules in development of resistance to taxanes and overcoming the resistance of the epothilones. Particularly interesting

* Praca powstała dzięki wsparciu finansowemu MNiSW/NCN: nr projektu: N N405 100939.



Keywords:	TUBB3 • epothilones • cancer cells
Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1138199
Word count:	2311
Tables:	–
Figures:	2
References:	39

Adres autorki: dr hab. Agnieszka Marczak, prof. nadzw. UŁ, 90-236 Łódź, ul. Pomorska 141/143; e-mail: aszwar@biol.uni.lodz.pl

WSTĘP

Paklitaksel (PTX), należący do grupy taksanów, jest od wielu lat ważnym składnikiem chemioterapii różnych typów nowotworów. W połączeniu z karboplatiną stanowi podstawową terapię adiuwantową, m.in. w przypadku nowotworu jajnika. Problemem, z którym borykają się lekarze jest jednak oporność na PTX i inne leki z tej grupy, dlatego wielu badaczy dąży do opisanie mechanizmów i molekularnych wskaźników oporności na taksany. Wiedza ta pozwoli na opracowanie nowych, korzystniejszych strategii leczenia chorych na raka. Szczególnie ważna w pokonywaniu zjawiska oporności wielolekowej wydaje się rola epitolonów, nowej grupy stabilizatorów mikrotubul.

W komórkach nowotworowych odnotowano wiele mechanizmów oporności na taksany. W doniesieniach literaturowych pisze się głównie o nadekspresji białek transportowych ABC, jako przyczynie niewrażliwości na stosowane leki. Mniej uwagi poświęca się natomiast modyfikacjom mikrotubul. Badania prowadzone w wielu ośrodkach potwierdziły, że mikrotubule są molekularnym celem taksanów. Za oporność na tę grupę leków odpowiedzialne mogą więc być także mutacje punktowe w genach α - i β -tubuliny, selektywne zmiany w ekspresji izotypów β -tubuliny oraz zaburzenia ekspresji białek związanych z mikrotubulami (MAP, microtubule associated proteins) oraz mikroRNA [24]. Od lat dziewięćdziesiątych ub.w. sądzono, że zaburzenia względnych proporcji między izotypami tubuliny, a zwłaszcza wzrost ilości β -tubuliny klasy III (TUBB3), zmieniają dynamikę mikrotubul, a to może być przyczyną lekooporności.

W pracy przedstawiono najnowsze doniesienia na temat roli TUBB3 w powstawaniu lekooporności na taksany wskazując na przewagę epitolonów w leczeniu chorych na nowotwory z nadekspresją TUBB3.

Mikrotubule – budowa, funkcje

Mikrotubule spełniają w komórce kilka funkcji. Uczestniczą w wewnątrzkomórkowym transporcie wody i innych metabolitów, nadają komórce kształt, polarność, biorą udział w przekazywaniu sygnałów, a także zapewniają prawidłowy rozdział chromosomów podczas podziału komórkowego [2]. Są zbudowane z heterodimerów α - i β -tubuliny, która jest białkiem globularnym o masie około 50 kDa [5,6,19]. Cechuje je „dynamiczna niestabilność” polegająca na gwałtownym skracaniu się bądź wydłużaniu w obecności cząsteczki guanozynotryfosforanu (GTP, guanosine-5'-triphosphate). Heterodimery α - i β -tubuliny łączą się tandemowo i tworzą protofilamenty. Dimer tubuliny w stanie wolnym jest związany z cząsteczką GTP i w tej postaci jest dołączany do końca plus mikrotubuli. Gdy w pobliżu końca plus jest obecna duża liczba cząsteczek GTP-tubuliny, tworzy się tzw. „czapeczka” (GTPcap). GTP protofilamenty są bardzo stabilne, co wydłuża mikrotubulę. Jeśli dochodzi do hydrolizy GTP z wytworzeniem cząsteczki guanozynydifosforanu (GDP, guanosine-5'-diphosphate) mikrotubule skracają się ponieważ protofilamenty zbudowane z heterodimerów GDP są niestabilne i łatwo odłączają się od mikrotubuli. Za zjawisko to są odpowiedzialne GTP-azy należące do rodziny Rho (RhoA, Rac1, Cdc42), które działają na zasadzie molekularnych przełączników regulujących wiele procesów komórkowych [28]. Białka Rho są aktywne przede wszystkim w cytoskiecie komórki, biorąc udział w reorganizacji mikrofilamentów aktynowych, jak i całych mikrotubul. GTP-azy regulują również miejscowo dynamiczność mikrotubul [27].

Wyróżniono kilka izotypów, zarówno w przypadku tubuliny α - jak i β , przyjmując za kryterium podziału różnice w sekwencji aminokwasów w domenach C-terminalnych tubuliny. Skład aminokwasowy jest niezwykle ważny, gdyż decyduje o oddziaływaniach tubulina-tubu-

lina w mikrotubulach. Modyfikacje w sekwencji aminokwasów mogą wpływać na konformację przestrzenną tubuliny i zmieniać przez to dynamikę polimeryzacji i depolimeryzacji mikrotubul, co upośledza pełnione funkcje. Izotypy tubuliny decydują o dynamice mikrotubul. Obserwowane różnice w przestrzennej konformacji mikrotubul zbudowanych z poszczególnych izotypów powodują, że mikrotubule eksponują w różnym stopniu miejsca rozpoznawane przez białka związane z mikrotubulami: MAP 1, MAP 2, surwiwinę, statminę i dynaktynę 1 [29].

Geny kodujące β izotypy tubuliny różnią się umiejscowieniem chromosomowym i tkankową ekspresją [4,10,12]. Wiadomo, że ekspresja tubuliny- β 1 (klasa I), β IVb (klasa IVb) i β V (klasa V) występuje we wszystkich tkankach organizmu; β IIa, β IIb (klasa II), β III (klasa III - TUBB3 class III β -tubulin) i β IVa (klasa IVa) w tkance mózgowej i jądrach, natomiast β VI jest związana z krwiotworzeniem [15].

Lekooporność związana z nadekspresją TUBB 3

Mutacje tubuliny i zmiany w ekspresji poszczególnych izotypów mogą wywołać lekooporność, zarówno bezpośrednio przez obniżenie powinowactwa leków do tubuliny, jak i pośrednio przez zmiany w dynamice mikrotubul [16]. Szczególnie duże znaczenie ma obecność β -tubuliny klasy III, która w prawidłowych komórkach wykazuje ekspresję na niskim poziomie. Zwiększone wytwarzanie tego białka stwierdza się natomiast w komórkach wielu typów nowotworów, np. w raku płuc [37], piersi, [3], czy stercza [32,33]. Zwykle nadekspresja korelowała ze słabym rokowaniem, które wynikało z pojawienia się oporności na taksany oraz często także inne leki, takie jak np. winorelbina [37]. Przedkliniczne i kliniczne badania prowadzone nad niedrobnokomórkowym raku płuc (NSCLC, non small cell lung cancer) wykazały, że nadmiar tubulin β -III często koreluje z opornością na leki oddziałujące z tubulinami, w tym z paklitaksem [17,37]. Zaobserwowano, że wyciszenie ekspresji klasy III β -tubulin w liniach komórkowych NSCLC zwiększyło wrażliwość komórek nie tylko na paklitaksel, ale także na związki uszkodzające DNA, takie jak cisplatyna, doksorubicyna czy etopozyd, które są często stosowane razem ze związkami oddziałującymi z tubulinami w leczeniu nowotworów zarówno pierwotnych, jak i nawracających [14].

W raku piersi udokumentowano zależność regulacji ekspresji genów tubuliny klasy III- β od aktywacji receptora estrogenowego [36]. Płeć może wpływać na wykorzystanie klasy III β -tubulin jako czynnika prognostycznego, co zasugerowano w niedawnych badaniach nad rakiem jelita grubego. U kobiet ekspresja tej grupy białek była większa u pacjentek z przerzutami oraz u pacjentek z gorszymi wynikami. Natomiast u mężczyzn nie odnotowano związku między ekspresją tych tubulin a rezultatami klinicznymi, stąd przypuszczenie, że ekspresja klasy III β -tubulin jest regulowana hormonalnie [23].

Pierwsze doniesienia na temat zmienionej ekspresji swoistych genów tubuliny w nowotworze jajnika pochodzą już z lat dziewięćdziesiątych ub.w. Wykorzystując technikę PCR do przeanalizowania ekspresji sześciu genów β -tubuliny w liniach komórkowych raka jajnika wykazano w warunkach *in vitro*, że zwłaszcza ekspresja tubuliny- β -III i IVa była związana z opornością na taksany w tych komórkach [18]. Kliniczną oporność na paklitaksel u pacjentek z rakiem jajnika i wysokim poziomem ekspresji β -tubuliny klasy III udokumentowano natomiast ponad dekadę temu. Zwiększoną ekspresję β -tubuliny klasy III wykazano u ponad 20% pacjentek z tym typem nowotworu. Średni czas przeżycia wyniósł w tej grupie około 24 miesięcy [11].

Dokładniejsze badania wykazały jednak, że rola nadekspresji β -tubuliny klasy III w oporności na taksany nie jest jednoznaczna. Mimo to, że była skorelowana z chemioopornością i złymi rokowaniami w surowiczym raku jajnika, co zaskakujące, wyniki japońskich badań wykazały, że tak nie jest w przypadku raka jasnokomórkowego. Ten typ nowotworu jest bardziej powszechny we Wschodniej Azji, gdzie stanowi prawie 20% wszystkich przypadków raka jajnika. W badaniach Aoki i wsp. u kobiet z jasnokomórkowym rakiem jajnika (OCCC) poddanych terapii opartej na taksanach, u których występowała ekspresja tubulin klasy III- β , okres wolny od progresji choroby, jak i całkowity czas przeżycia były dłuższe w porównaniu z pacjentkami niewykazującymi ekspresji tubuliny β -III [1].

Mechanizm odpowiedzialny za oporność komórek z nadekspresją TUBB3 na paklitaksel tłumaczy się właściwościami mikrotubul utworzonych z tubuliny klasy III. Mają one większe dynamiczne właściwości jeśli chodzi o polimeryzację i depolimeryzację mikrotubul. W wyniku tego dimery powstające z tubuliny klasy III są mniej wrażliwe na supresję, hamowanie procesów depolimeryzacji przez taksany niż mikrotubule bogate w inne izotypy tubuliny [9].

Warto podkreślić, że ekspresja β -tubuliny klasy III ma drugorzędne znaczenie w prognozowaniu odpowiedzi klinicznej [1]. W regulacji ekspresji białka duże znaczenie mają jednoniciowe cząsteczki RNA. Uczestniczą w wyciszeniu docelowego mRNA przez hamowanie translacji, degradację transkryptu, czy zmianę struktury chromatyny. Proces jest zależny od rodzaju efektorowego kompleksu białkowo-rybonukleinowego (RNP), z którym dana klasa regulatorowych RNA (srRNA, small regulatory RNA) oddziałuje. Wyróżnia się dwa główne szlaki wykorzystujące krótkie RNA – miRNA i interferencyjny RNA (iRNA) [38]. Krótkie nukleotydy niekodującego RNA (miRNA, mikroRNA) są regulatorami ekspresji β -tubuliny klasy III. Znaczenie miRNA w biologii komórki jest powszechnie udowodnione, a charakter ekspresji miRNA jest powiązany z kliniczną charakterystyką nowotworów. Mogą działać zarówno jako onkogeny, jak i supresory nowotworów. Jednym z enzymów biorących udział w wyciszaniu ekspresji



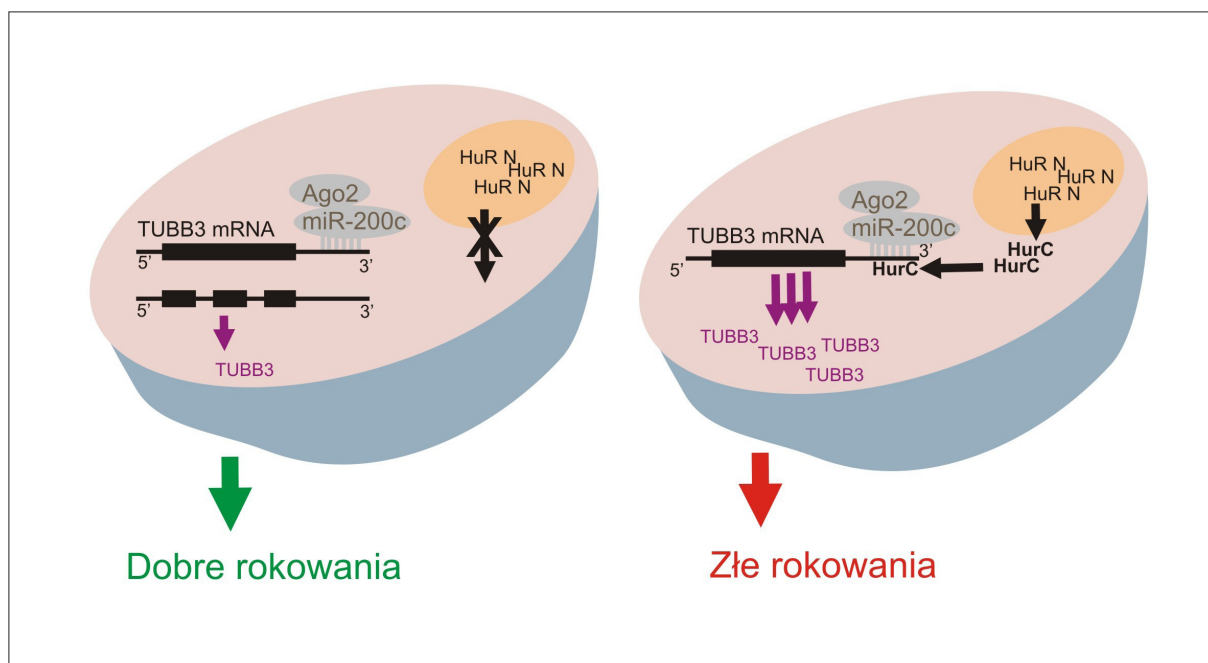
genów jest rybonukleaza Dicer, o aktywności RNazy III, generująca dwuniciowy RNA, zawierający na końcu 3' dwa niesparowane nukleotydy. Jedna z nici RNA w postaci 19–23-nukleotydowego dupleksu jest następnie uwalniana i degradowana. Druga nić, czyli dojrzały miRNA, tworzy hybrydę z kompleksem efektorowym RNP, zwanym RISC (RNA-induced silencing complex), która skanuje nić mRNA w poszukiwaniu docelowej sekwencji, komplementarnej do miRNA. Kompleks RISC wykazuje aktywność helikazy, a także endo i egz nukleazy. Głównym składnikiem RNP jest endonukleaza z rodziny Argonaute/Piwi (Ago/Piwi). W zależności od stopnia komplementarności może dochodzić do degradacji transkryptu bądź supresji translacji. Jeżeli miRNA jest komplementarna do docelowego RNA, następuje swoiste względem sekwencji rozcięcie oraz degradacja mRNA, w którym uczestniczy białko Ago2. A zatem cięcie mRNA TUBB3, obniża stężenie białka i zwiększa wrażliwość pacjentów na chemioterapię [38,30].

Leskela i wsp. scharakteryzowali oraz określili ilościowo ekspresję różnych typów miRNA: miR-141, miR-200a, miR-200b, miR-20c i miR-429 w 72 nowotworach jajnika. Oceniano związek między typami miRNA, ekspresją β -tubulin, odpowiedzią na terapię opartą na paklitakselu oraz czasem przeżycia. Wykazano, że niska ekspresja nowotworowego miR-200 znacząco koreluje nie tylko z dużym stężeniem β -tubuliny klasy III, ale też z niecałkowitą odpowiedzią na chemioterapię opartą na platynie/taksanach. Autorzy sugerują, że członkowie rodziny miR-200 mogą zostać biomarkerami odpowiedzi na chemioterapię opartą na paklitakselu i nawrotu bądź progresji choroby u pacjentów z rakiem jajnika [20]. Podobne badania na nabłonkowym raku jajnika w I stadium zaawansowania potwierdzają, że u pacjentek z nawrotem choroby

występuje niższe stężenie miR-200c w porównaniu do tych, u których choroba nie nawróciła. Ekspresja klasy III β -tubulin u pacjentów z nawrotem była dwa razy większa niż u tych z remisją. Geny kodujące tubuliny β -III są uważane za potencjalne cele miR-200c. Zgodnie z rezultatami Leskali i wsp. wykazano odwrotną zależność między stężeniem miR-200c a ekspresją tubulin klasy III- β [22].

Zaobserwowano na przykład, że w warunkach hipoglikemii, korelujących ze wzrostem agresywności nowotworów, wzrasta ekspresja TUBB3, co uznaje się za jeden z mechanizmów adaptacji komórek nowotworowych. Nadmierna ekspresja TUBB3 prowadzi do oporności i tym samym ułatwia przeżycie komórkom nowotworowym.

Badania wykazały także, iż duże znaczenie w ocenie szans na skuteczne przeżycie pacjentów ma obecność białka HuR. TUBB3 wiąże się z białkiem wiążącym RNA-HuR (RBP, RNA-binding protein) do 3'UTR rejonu RNA. Rola w tym procesie miR-200c jest niewyjaśniona. Niemniej jednak w komórkach raka jajnika linii Hey i A2780 zaobserwowano nadekspresję miR-200c. Białko HuR reguluje liczne geny kodujące białka związane z kancerogenezą przez współdziałanie z miRNA zależnie od komórkowego umiejscowienia [31]. Jeśli białko HuR jest umiejscowione w jądrze komórkowym, miR-200c zachowuje się jak supresor i obniża ekspresję TUBB3 (lewy panel), czego wynikiem jest wrażliwość na chemioterapię (ryc. 1). Jeśli występuje translokacja białka HuR do cytoplazmy (HuR C), dochodzi do interakcji białek miR-200c-RISC z mRNA genu TUBB3, co zwiększa stabilność połączenia mRNA z rybosomem. Zwiększenie wydajności ekspresji białka TUBB3 prowadzi do lekooporności i słabej odpowiedzi na terapię [30]. W sytuacji, gdy białko HuR pozostaje w jądrze – współdziała z miRNA w hamo-



Ryc. 1. Mechanizm działania miR-200c na mRNA TUBB3 w raku jajnika; opis w tekście [wg [31] zmodyfikowano)

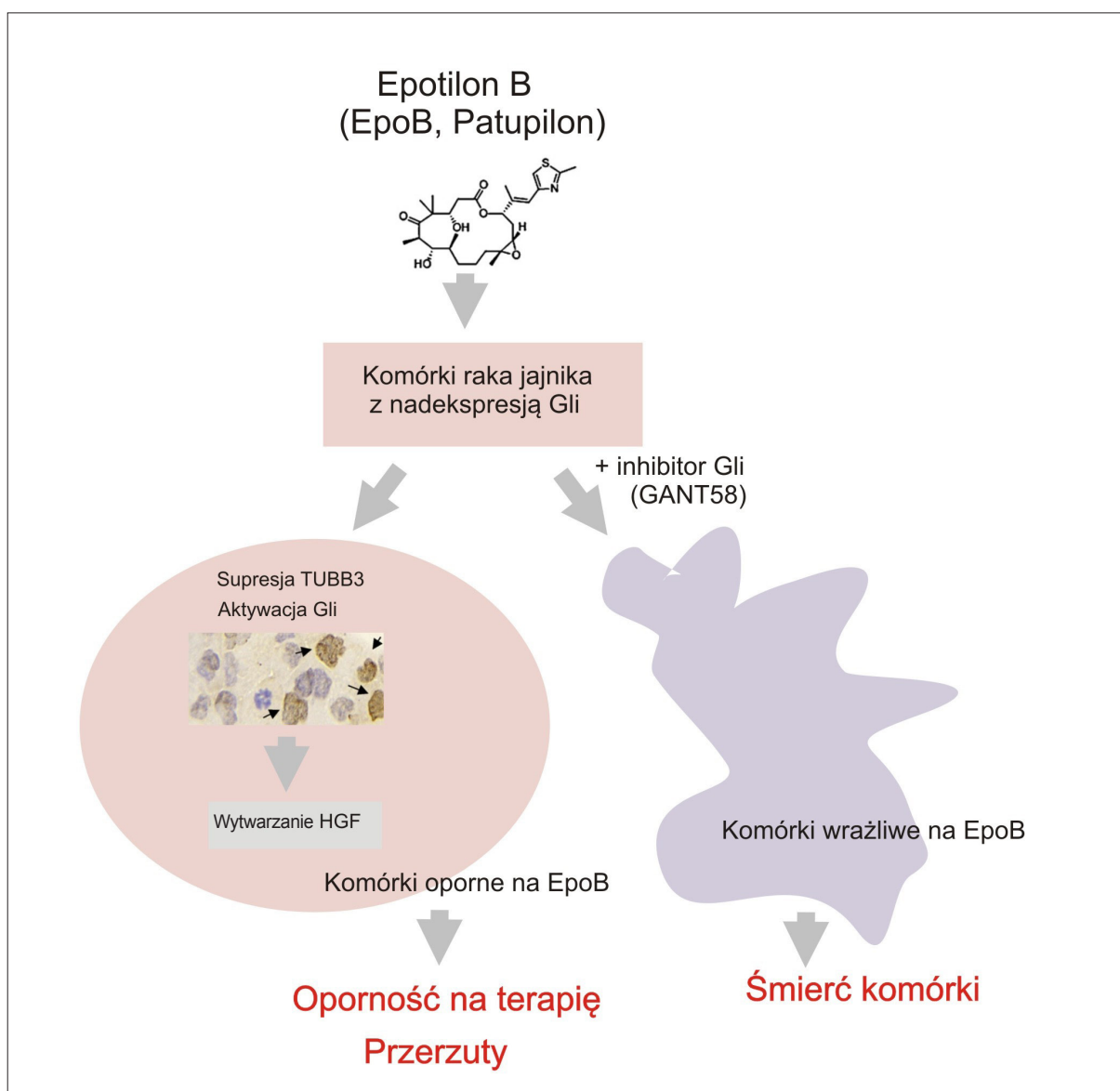
waniu ekspresji genów. Wówczas dochodzi do cięcia mRNA z udziałem białka Ago2 [38].

Dostępne wyniki sugerują, że β -tubulina klasy III może być użyteczna jako połączony marker prognostyczny i rokowniczy, ale jako samodzielny czynnik nie jest odpowiednim biomarkerem. Funkcjonowanie β -tubuliny klasy III jest powiązane, co najmniej z dwoma białkami o aktywności GTP-azy. Udowodniono, że białko wiążące GTP (GBP-1, guanylate-binding protein 1) ma zdolność aktywowania funkcji zwiększającej przeżycie komórek nowotworowych zależnej od klasy III β -tubulin, a PIM1, związany z GBP-1, jest rekrutowany do cytoszkieletu w warunkach hipoksji [8]. Stwierdzono, że pacjenci z ekspresją zarówno β -tubuliny klasy III, jak i PIM1, mieli gorsze prognozy niż ci, u których żaden z tych czynników nie ulegał ekspresji. W badaniach tych wykazano, że

β -tubuliny klasy III funkcjonują jak brama dla czynników zwiększających przeżycie, takich jak PIM1, przez którą przedostają się do cytoszkieletu [8]. Wbudowanie PIM1 w GBP1 tubuliny β -III ostatecznie prowadzi do lekooporności. Poszerzenie wiedzy o funkcji tych tubulin jako czynników zwiększających przeżycie nie tylko ułatwi identyfikację pacjentów z większym ryzykiem nawrotu choroby po początkowej terapii, ale też pomoże w rozwoju skutecznych celów terapeutycznych.

EPOTILONY PRZEŁAMUJĄ OPORNOŚĆ NA TAKSANY W KOMÓRKACH Z NADEKSPRESJĄ β -TUBULINY KLASY III

Epotilony to grupa związków, które przełamują oporność komórek nowotworowych na taksany. Są aktywne w nowotworach opornych na paklitaksel przypuszczalnie z powodu ich unikatowej zdolności do wiązania się,



Ryc. 2. Rola białka Gli1 w regulacji wpływu epotilonów na komórki raka jajnika (wg [26] zmodyfikowano)



z równym powinowactwem, do β -tubuliny klasy I i III [21]. Paklitaksel łączy się preferencyjnie z β -tubuliną klasy I, która różni się od β -tubuliny klasy III w miejscu wiązania leku aminokwasem w pozycji 275 (Ser→Ala) i 364-365 (Ala-Val→Ser-Ser) [35].

Podobnie jak w przypadku taksanów, także w obecności epotilonów odnotowano znaczącą korelację między stężeniem TUBB3, a odpowiedzią na leki w przypadku wszystkich epotilonów. Komórki HeLa z konstytutywną nadekspresją TUBB3, były mniej wrażliwe na epotilon B [34]. Najnowsze doniesienia wskazują na zwiększoną śmiertelność komórek z wyciszoną ekspresją TUBB3 traktowanych epotilonem B [13]. W innym raporcie autorzy badając komórki macicy (z nadekspresją TUBB3) i jajnika, wykazali, że linie te w równym stopniu odpowiadają na paklitaksel, ale komórki macicy były bardziej wrażliwe na epotilon B [5].

Udowodniono jednak, że poziom TUBB3 nie zwiększył się po traktowaniu epotilonem B, co obserwowano po traktowaniu komórek paklitaksellem [25]. Ta grupa badaczy dokonała jeszcze jednego ciekawego odkrycia. Mianowicie w komórkach jajnika linii OVCAR-3 zaobserwowali odwrotną korelację między ekspresją TUBB3 a czynnikiem transkrypcyjnym Gli1. Gli1 jest to białko w szlaku Hedgehog, który reguluje organogenezę, a u dorosłych osobników odpowiada za homeostazę tkanek i regulację działania komórek macierzystych. Białka Glis (Gli1, 2, 3) są końcowymi efektorami tego szlaku, uczestniczącymi w aktywacji i hamowaniu transkrypcji wielu genów odpowiedzialnych za proliferację, różnicowanie, przeżycie czy angiogenezę [39]. W komórkach raka jajnika

nadekspresja Gli1 jest związana z obniżeniem odpowiedzi na chemioterapię [7].

Mozzetti i wsp. zaobserwowali zjawisko oporności na epotilon B w komórkach jajnika związany z obniżonym stężeniem TUBB3 i zwiększoną ekspresją Gli1. Ponadto komórki odporne na epotilony wytwarzały czynnik wątrobowy wzrostu (HGF, hepatocyte growth factor) i nabierały cech fenotypu mezenchymalnego, a zatem dawały przerzuty. Wzrost Gli1 był skorelowany ze wzrostem stężenia HGF. Odwrócenie tego zjawiska okazało się możliwe po zastosowaniu inhibitora białka Gli1-GANT-58. Odkrycie to pozwoli jeszcze skuteczniej walczyć z rakiem jajnika stosując epotilon B [26] (ryc. 2).

PODSUMOWANIE

Mechanizm tłumaczący przewagę epotilonów nad taksanami w leczeniu raka jajnika jest skomplikowany. Zwiększona skuteczność epotilonów jest spowodowana nie tylko różnicami w budowie miejsca, w którym dochodzi do bezpośredniego wiązania się leków, ale jest związana także z późniejszymi zmianami zachodzącymi w komórce, zależnymi od wielu białek i czynników transkrypcyjnych. Szczegółowe poznanie działania tej grupy związków jest nadal przedmiotem badań, a rozbieżności między wynikami badań poszczególnych ośrodków podkreślają potrzebę dalszych poszukiwań mających na celu sprecyzowanie funkcjonowania i kontroli genowej nad TUBB3 i roli, jaką odgrywa TUBB3 w działaniu epotilonów.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Aoki D., Oda Y., Hattori S., Taguchi K., Ohishi Y., Basaki Y., Oie S., Suzuki N., Kono S., Tsuneyoshi M., Ono M., Yanagawa T., Kuwano M.: Overexpression of class III β -tubulin predicts good response to taxane-based chemotherapy in ovarian clear cell adenocarcinoma. *Clin. Cancer Res.*, 2009; 15: 1473-1480
- [2] Baas P.W., Karabay A., Qiang L.: Microtubules cut and run. *Trends Cell Biol.*, 2005; 15: 518-524
- [3] Banerjee A.: Increased levels of tyrosinated α -, β_{II} -, and β_{IV} -tubulin isotypes in paclitaxel-resistant MCF-7 breast cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2002; 293: 598-601
- [4] Bhattacharya R., Cabral F.: A ubiquitous beta-tubulin disrupts microtubule assembly and inhibits cell proliferation. *Mol. Biol. Cell.*, 2004; 15: 3123-3131
- [5] Carrara L., Guzzo F., Roque D.M., Bellone S., Emiliano C., Sartori E., Pecorelli S., Schwartz P.E., Rutherford T.J., Santin A.D.: Differential in vitro sensitivity to paclitaxel versus paclitaxel in uterine and ovarian carcinosarcoma cell lines is linked to tubulin-beta-III expression. *Gynecol. Oncol.*, 2012; 125: 231-236
- [6] Chen K., Huzil J.T., Freedman H., Ramachandran P., Antoniou A., Tuszyński J.A., Kurgan L.: Identification of tubulin drug binding sites and prediction of relative differences in binding affinities to tubulin isotypes using digital signal processing. *J. Mol. Graph. Model.*, 2008; 27: 497-505
- [7] Chen X., Horiuchi A., Kikuchi N., Osada R., Yoshida J., Shiozawa T., Konishi I.: Hedgehog signal pathway is activated in ovarian carcinomas, correlating with cell proliferation: its inhibition leads to growth suppression and apoptosis. *Cancer Sci.*, 2007; 98: 68-76
- [8] De Donato M., Mariani M., Petrella L., Martinelli E., Zannoni G.F., Vellone V., Ferrandina G., Shahabi S., Scambia G., Ferlini C.: Class III β -tubulin and the cytoskeletal gateway for drug resistance in ovarian cancer. *J. Cell. Physiol.*, 2012; 227: 1034-1041
- [9] English D.P., Roque D.M., Santin A.D.: Class III β -tubulin overexpression in gynecologic tumors: implications for the choice of microtubule targeted agents? *Expert. Rev. Anticancer Ther.*, 2013; 13: 63-74
- [10] Ferlini C., Raspaglio G., Cicchillitti L., Mozzetti S., Prislei S., Bartollino S., Scambia G.: Looking at drug resistance mechanisms for microtubule interacting drugs: does TUBB3 work? *Curr. Cancer Drug Targets*, 2007; 7: 704-712
- [11] Fleming G.F., Brunetto V.L., Cella D., Look K.Y., Reid G.C., Munkarah A.R., Kline R., Burger R.A., Goodman A., Burks R.T.: Phase III trial of doxorubicin plus cisplatin with or without paclitaxel plus filgrastim in advanced endometrial carcinoma: a Gynecologic Oncology Group Study. *J. Clin. Oncol.*, 2004; 22: 2159-2166
- [12] Fojo T., Menefee M.: Mechanisms of multidrug resistance: the potential role of microtubule-stabilizing agents. *Ann. Oncol.*, 2007; 18, Suppl. 5: 3-8

- [13] Gan P.P., McCarroll J.A., Byrne F.L., Garner J., Kavallaris M.: Specific beta-tubulin isotypes can functionally enhance or diminish epothilone B sensitivity in non-small cell lung cancer cells. *PLoS One*, 2011; 6: e21717
- [14] Gan P.P., Pasquier E., Kavallaris M.: Class III β -tubulin mediates sensitivity to chemotherapeutic drugs in non small cell lung cancer. *Cancer Res.*, 2007; 67: 9356-9363
- [15] Kanakkanthara A., Northcote P.T., Miller J.H.: β II-tubulin and β III-tubulin mediate sensitivity to peloruside A and laulimalide, but not paclitaxel or vinblastine, in human ovarian carcinoma cells. *Mol. Cancer Ther.*, 2012; 11: 393-404
- [16] Kanakkanthara A., Teesdale-Spittle P.H., Miller J.H.: Cytoskeletal alterations that confer resistance to anti-tubulin chemotherapeutics. *Anticancer Agents Med. Chem.*, 2013; 13: 147-158
- [17] Kavallaris M.: Microtubules and resistance to tubulin-binding agents. *Nat. Rev. Cancer*, 2010; 10: 194-204
- [18] Kavallaris M., Kuo D.Y., Burkhart C.A., Regl D.L., Norris M.D., Haber M., Horwitz S.B.: Taxol-resistant epithelial ovarian tumors are associated with altered expression of specific beta-tubulin isotypes. *J. Clin. Invest.*, 1997; 100: 1282-1293
- [19] Leandro-Garcia L.J., Leskela S., Landa I., Montero-Conde C., Lopez-Jimenez E., Leton R., Cascon A., Robledo M., Rodriguez-Antona C.: Tumor and tissue-specific expression of the major human beta-tubulin isotypes. *Cytoskeleton*, 2010; 67: 214-223
- [20] Leskela S., Leandro-Garcia L.J., Mendiola M., Barriuso J., Inglada-Perez L., Munoz I., Martinez-Delgado B., Redondo A., de Santiago J., Robledo M., Hardisson D., Rodriguez-Antona C.: The miR-200 family controls beta-tubulin III expression and is associated with paclitaxel-based treatment response and progression-free survival in ovarian cancer patients. *Endocr. Relat. Cancer*, 2011; 18: 85-95
- [21] Magnani M., Ortuso F., Soro S., Alcaro S., Tramontano A., Botta M.: The betaI/betaII-tubulin isoforms and their complexes with antimetabolic agents. Docking and molecular dynamics studies. *FEBS J.*, 2006; 273: 3301-3310
- [22] Marchini S., Cavaliere D., Fruscio R., Calura E., Garavaglia D., Nerini I.F., Mangioni C., Cattoretti G., Clivio L., Beltrame L., Katsaros D., Scarampi L., Menato G., Perego P., Chiorino G., Buda A., Romualdi C., D'Incalci M.: Association between miR-200c and the survival of patients with stage I epithelial ovarian cancer: a retrospective study of two independent tumour tissue collections. *Lancet Oncol.*, 2011; 12: 273-285
- [23] Mariani M., Zannoni G.F., Sioletic S., Sieber S., Martino C., Martinelli E., Coco C., Scambia G., Shahabi S., Ferlini C.: Gender influences the class III and V β -tubulin ability to predict poor outcome in colorectal cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2012; 18: 2964-2975
- [24] Mozzetti S., Ferlini C., Concolino P., Filippetti F., Raspaglio G., Prislei S., Gallo D., Martinelli E., Ranelletti F.O., Ferrandina G., Scambia G.: Class III β -tubulin overexpression is a prominent mechanism of paclitaxel resistance in ovarian cancer patients. *Clin. Cancer Res.*, 2005; 11: 298-305
- [25] Mozzetti S., Iantomasi R., De Maria I., Prislei S., Mariani M., Camperchioli A., Bartollino S., Gallo D., Scambia G., Ferlini C.: Molecular mechanisms of paclitaxel resistance. *Cancer Res.*, 2008; 68: 10197-10204
- [26] Mozzetti S., Martinelli E., Raspaglio G., Prislei S., De Donato M., Filippetti F., Shahabi S., Scambia G., Ferlini C.: Gli family transcription factors are drivers of paclitaxel resistance in ovarian cancer. *Biochem. Pharmacol.*, 2012; 84: 1409-1418
- [27] Narumiya S., Yasuda S.: Rho GTPases in animal cell mitosis. *Curr. Opin. Cell. Biol.*, 2006; 18: 199-205
- [28] Nowak J.M., Grzanka A., Zuryn A., Stepień A.: Rodzina białek Rho i ich rola w cytoszkieletcie komórki. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 110-117
- [29] Panda D., Miller H.P., Banerjee A., Luduena R.F., Wilson L.: Microtubule dynamics in vitro are regulated by the tubulin isotype composition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994; 91: 11358-11362
- [30] Potapińska O., Wąsik M.: Wyciszenie nadekspresji genu *MDR1* za pomocą siRNA: nośniki, efekty, perspektywy. *Nowotwory*, 2009; 1: 33-39
- [31] Prislei S., Martinelli E., Mariani M., Raspaglio G., Sieber S., Ferrandina G., Shahabi S., Scambia G., Ferlini C.: MiR-200c and HuR in ovarian cancer. *BMC Cancer*, 2013; 13: 72
- [32] Ranganathan S., Benetatos C.A., Colarusso P.J., Dexter D.W., Hudes G.R.: Altered beta-tubulin isotype expression in paclitaxel-resistant human prostate carcinoma cells. *Br. J. Cancer*, 1998; 77: 562-566
- [33] Ranganathan S., Dexter D.W., Benetatos C.A., Chapman A.E., Tew K.D., Hudes G.R.: Increase of beta(III)- and beta(IV)-tubulin isotopes in human prostate carcinoma cells as a result of estramustine resistance. *Cancer Res.*, 1996; 56: 2584-2589
- [34] Risinger A.L., Jackson E.M., Polin L.A., Helms G.L., LeBoeuf D.A., Joe P.A., Hopper-Borge E., Luduena R.F., Kruh G.D., Mooberry S.L.: The taxalonolides: microtubule stabilizers that circumvent clinically relevant taxane resistance mechanisms. *Cancer Res.*, 2008; 68: 8881-8888
- [35] Roque D.M., Bellone S., English D.P., Buza N., Cocco E., Gasparini S., Bortolomai I., Ratner E., Silasi D.A., Azodi M., Rutherford T.J., Schwartz P.E., Santin A.D.: Tubulin- β -III overexpression by uterine serous carcinomas is a marker for poor overall survival after platinum/taxane chemotherapy and sensitivity to epothilones. *Cancer*, 2013; 119: 2582-2592
- [36] Saussède-Aim J., Matera E.L., Ferlini C., Dumontet C.: β 3-tubulin is induced by estradiol in human breast carcinoma cells through an estrogen-receptor dependent pathway. *Cell Motil. Cytoskeleton*, 2009; 66: 378-388
- [37] Seve P., Dumontet C.: Is class III β -tubulin a predictive factor in patients receiving tubulin-binding agents? *Lancet Oncol.*, 2008; 9: 168-175
- [38] Sikora E., Ptak W., Bryniarski K.: Immunoregulacja poprzez interferencyjny RNA - mechanizmy, rola, perspektywy. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2011; 65: 482-495
- [39] Stecca B., Ruiz i Altaba A.: Context-dependent regulation of the GLI code in cancer by HEDGEHOG and non-HEDGEHOG signals. *J. Mol. Cell Biol.*, 2010; 2: 84-95

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.

