

Poliploidia jako rezultat terapii przeciwnowotworowych i przyczyna braku ich skuteczności

STRESZCZENIE

Poliploidia komórek nowotworowych obok ich wrodzonej i nabytej oporności jest opisywana jako mechanizm odpowiedzialny za nieskuteczność terapii przeciwnowotworowych opartych głównie na związkach cyto- i genotoksycznych. Jest ona odpowiedzią części komórek na działanie leków, które indukują w nich endoreduplikację, nieprawidłową cytokinę, fuzję lub kanibalizm, co w konsekwencji prowadzi do zwielokrotnienia poziomu DNA, zatrzymania podziałów i uniknięcia śmierci. Odtworzenie raka następuje w wyniku depoliploidyzacji komórek poliploidalnych na drodze neozy, podziałów amitotycznych i podobnych do mejozy. W pracy przeglądowej prezentujemy poznane dotychczas mechanizmy odpowiedzialne za powstawanie komórek poliploidalnych, ich główne cechy i rolę w nawrotach raka. Przedstawiamy również obecnie brane pod uwagę podejścia, celujące w metabolizm i ścieżki sygnałowe, które są niezbędne do funkcjonowania komórek poliploidalnych. Dane literaturowe wskazują, że zastosowanie chemioterapii lub radioterapii w skojarzeniu ze związkami hamującymi powstawanie lub eliminującymi komórki poliploidalne może w istotny sposób zwiększyć skuteczność leczenia.

WPROWADZENIE

Współczesne terapie przeciwnowotworowe obejmują wiele sposobów leczenia, jednak całkowite wyleczenie nowotworów złośliwych, do których należą także raki wywodzące się z tkanki nabłonkowej, pozostaje bardzo trudnym zadaniem. Wynika to z mechanizmów przetrwania wykształcanych przez te komórki, często w odpowiedzi na zastosowane leczenie. Dostępne są liczne podejścia terapeutyczne mające na celu zwalczanie nowotworów złośliwych. Zalicza się do nich chemioterapię, radioterapię, immunoterapię, terapię celowaną oraz spersonalizowaną. Pomimo tego w wielu przypadkach stosuje się chemioterapię przez wzgląd na między innymi wysoką dostępność leków o różnym mechanizmie działania. Warunkuje to możliwość dostosowania leku do danego typu nowotworu złośliwego, zmianę leczenia w przypadku nabycia oporności przez nowotwór i łączenie leków w terapię skojarzone. Chemioterapia stosowana jest często w przypadku nowotworów złośliwych zdiagnozowanych w późnych stadiach choroby, charakteryzujących się obecnością komórek aktywnie proliferujących, tworzących przerzuty i pozbawionych charakterystycznych markerów dla terapii celowanej, co ogranicza możliwość zastosowania innych form leczenia [1].

Komórki nowotworowe namnażające się w wyniku podziałów mitotycznych przechodzą przez kilka następujących po sobie etapów cyklu komórkowego, który ma na celu zwielokrotnienie, a następnie rozdzielenie materiału genetycznego i cytoplazmy pomiędzy dwie komórki potomne. Obejmuje on podział komórki (kariokinęzę i cytokinęzę) oraz okres międzypodziałowy – interfazę, na którą składają się fazy G1, S i G2. Zaburzenia w przebiegu cyklu komórkowego i zaburzenia funkcjonowania punktów kontrolnych na granicy kolejnych jego faz mogą prowadzić do niekontrolowanego podziału komórek, co sprzyja transformacji nowotworowej i postępowi choroby. Leki przeciwnowotworowe stosowane w chemioterapii mają na celu blokowanie podziałów mitotycznych i indukowanie różnych typów śmierci komórki, często poprzez powodowanie uszkodzeń DNA, wywoływanie zaburzeń w procesie replikacji czy cytokinęzy. Jednak w trakcie terapii nowotwory złośliwe wytwarzają lub utrwalają już istniejące mechanizmy umożliwiające im adaptację do warunków stresowych wywoływanych przez chemioterapeutyki. Do najczęściej wymienianych należą nadekspresja transporterów ABC i białek naprawy uszkodzeń DNA oraz tworzenie komórek poli-aneuploidalnych [2,3]. Komórki poliploidalne charakteryzują się zwiększoną liczbą całych chromosomów w komórce i stanowią ważny obszar badań w dziedzinie biologii nowotworów, ponieważ procentowy udział komórek poliploidalnych lub mających zdolność do przechodzenia w stan poliploidii rośnie w odpowiedzi na terapie przeciwnowotworowe oraz w wyniku

Mgr Kinga Kołacz^{1,2}✉,

Mgr Karolina Gronkowska^{1,2},

Mgr Magdalena Strachowska^{1,2},

dr hab. Agnieszka Robaszkiewicz, prof. UŁ¹✉

¹Katedra Biofizyki Ogólnej, Wydział Biologii i Ochrony, Uniwersytet Łódzki

²Szkoła Doktorska BioMedChem Uniwersytetu Łódzkiego i Instytutów Polskiej Akademii Nauk w Łodzi, Uniwersytet Łódzki

https://doi.org/10.18388/pb.2021_557

✉autorzy korespondujący: kinga.kolacz@edu.uni.lodz.pl; agnieszka.robaszkiwicz@biol.uni.lodz.pl

Słowa kluczowe: poliploidalne olbrzymie komórki nowotworowe, oporność wielolekowa, chemioterapia, endoreduplikacja, depoliploidyzacja

Wykaz skrótów: AMPK – kinaza białkowa aktywowana AMP; DDR – odpowiedź na uszkodzenia DNA (ang. *DNA damage response*); PGCC – poliploidalne olbrzymie komórki nowotworowe (ang. *polyploid giant cancer cells*); PRL3 – białkowa fosfataza tyrozynowa (ang. *protein tyrosine phosphatase 4A3*); Rho A – białko o aktywności GTP-azy (ang. *Ras homolog family member A*); SAC – punkt kontrolny wrzeciona podziałowego (ang. *Spindle Assembly Checkpoint*); TIP – poliploidia indukowana leczeniem (ang. *therapy-induced poliploidy*); TIS – starzenie komórkowe indukowane leczeniem (ang. *therapy-induced senescence*)

niedotlenienia lub braku składników odżywczych [4]. W wielu typach nowotworów złośliwych obserwuje się olbrzymie komórki z jednym ogromnym lub wieloma mniejszymi jądrami i są one określane jako poliploidalne olbrzymie komórki nowotworowe (ang. *polyploid giant cancer cells*, PGCC) lub olbrzymie nowotworowe komórki wielojądrzaste (ang. *multinucleated giant cancer cells*). Pierwszy termin jest aktualnie powszechnie akceptowany i stosowany przez większość badaczy zajmujących się poliploidalnością komórek nowotworowych. Chociaż PGCC stanowią stosunkowo niewielką część populacji komórek w guzie wahającą się od 5% do 20% to zakłada się obecnie, że te ogromne komórki są odpowiedzialne za nawroty nowotworu po leczeniu i nieskuteczność terapii [5-7].

Komórki poliploidalne definiuje się jako subpopulację komórek nowotworowych zawierających jedno jądro komórkowe o zwielokrotnionej ilości materiału genetycznego lub wiele widocznie oddzielonych jąder komórkowych [8,9]. Powstawanie PGCC przyczynia się do wytworzenia heterogenności genetycznej zwiększając prawdopodobieństwo przeżycia przynajmniej części komórek nowotworowych w warunkach niekorzystnych. Niezależnie od liczby jąder komórkowych PGCC charakteryzują się dużym rozmiarem zarówno samego jądra o nieregularnej strukturze jak i całej komórki, jednak morfologia tych komórek różni się w zależności od linii komórkowej [10]. Zhang i wsp. zdefiniowali średni rozmiar olbrzymiej komórki poliploidalnej jako ponad trzykrotnie większy od diploidalnej komórki nowotworowej (od 3 do 10 razy) [11]. Dane literaturowe wskazują na możliwość wykorzystywania liczby PGCC jako markera do oceny stopnia złośliwości i zróżnicowania guzów litych [9]. Pomimo znaczenia klinicznego, dokładne mechanizmy leżące u podstaw indukowania polianeuploidii i rozmieszczenia olbrzymich komórek w guzach pierwotnych i przerzutach po terapii przeciwnowotworowej pozostają słabo poznane.

PGCC mogą pojawić się m.in. w odpowiedzi na promieniowanie jonizujące oraz leki przeciwnowotworowe stosowane w chemioterapii [4,7], co najprawdopodobniej skutkuje odnowieniem populacji komórek nowotworowych tym samym przyczyniając się do wzrostu guza, przerzutowania oraz wznowy [6]. Dlatego zrozumienie procesów związanych z tworzeniem się poliploidii, znalezienie sposobu eliminacji PGCC i zapobiegania ich powstawaniu w trakcie terapii może przyczynić się do zwiększenia skuteczności leczenia pacjentów z nowotworami złośliwymi, dla których leczeniem pierwszego wyboru jest chemio- i radioterapia [6]. W niniejszej pracy wymieniamy i charakteryzujemy obecnie znane mechanizmy powstawania polianeuploidii indukowanej przez terapię przeciwnowotworowe, rzucając światło na implikacje tego procesu w obniżeniu skuteczności chemioterapii i odtwarzaniu się populacji komórek nowotworowych.

MECHANIZMY POWSTAWANIA KOMÓREK WIELOJĄDRZASTYCH A TERAPIE PRZECIWNOWOTWOROWE

Diploidalne komórki nowotworowe mogą być przekształcane w poliploidalne olbrzymie komórki nowotwo-

rowe na drodze procesów takich jak: endoreduplikacja, poślizg mitotyczny, nieprawidłowa cytokineza, fuzja komórek lub kanibalizm mitotyczny (Ryc. 1) [6,9,12].

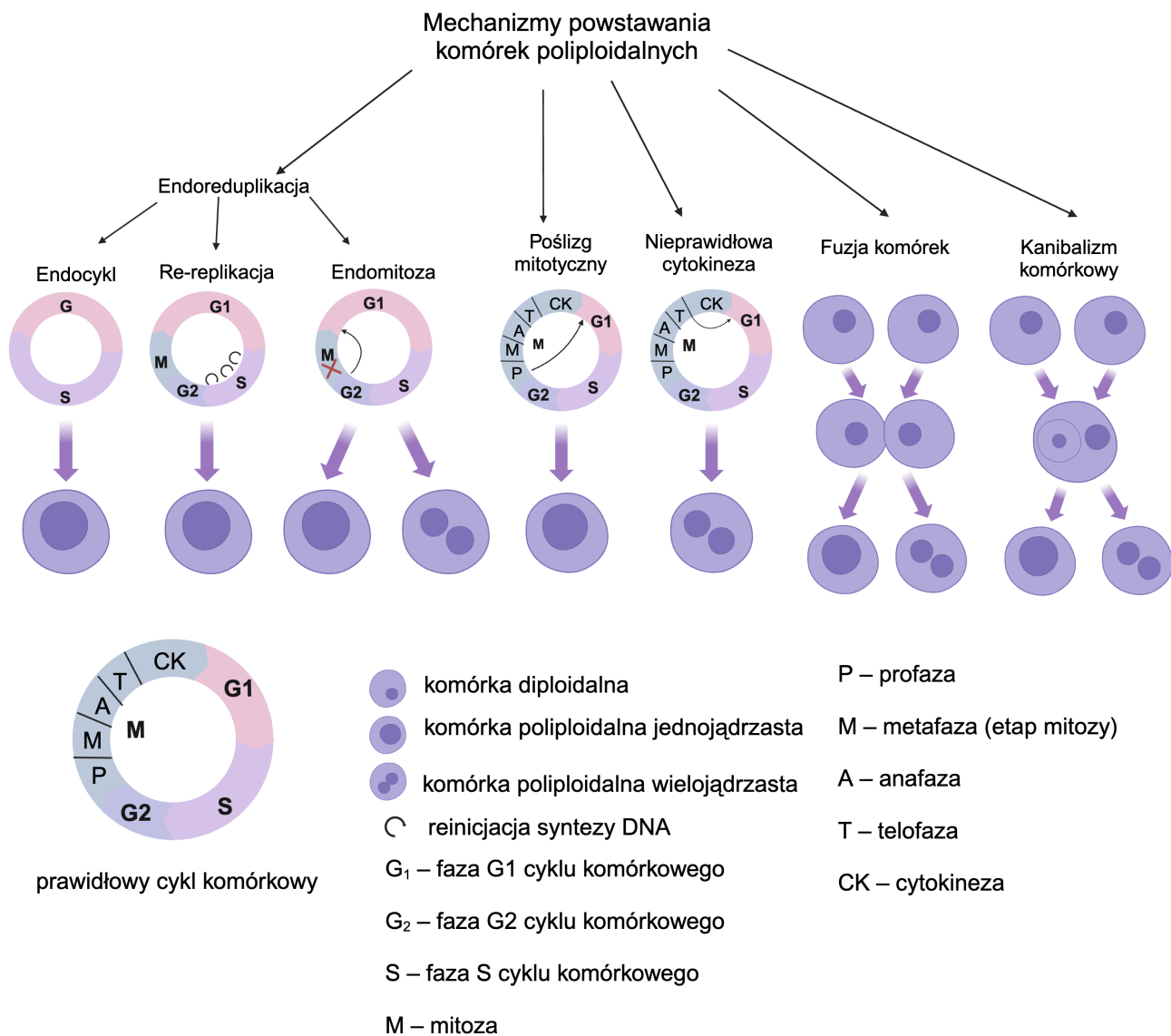
ENDOREDUPLIKACJA

Ten mechanizm powstawania PGCC obejmuje zaburzenia przebiegu mitozy takie jak: endomitoza, endocykl, poślizg mitotyczny i nieprawidłowa lub niewydolna cytokineza. Endoreduplikacja to proces, w którym komórka przechodzi przez cykl replikacji DNA bez podziału komórki i wiąże się z pominięciem mitozy (endocykl), ponownym rozpoczęciem replikacji DNA w trakcie fazy S cyklu komórkowego (re-replikacja) lub przerwaniem mitozy (endomitoza) [13,14]. Jednym z wymienionych wariantów endoreduplikacji jest proces endomitozy, w którym komórki rozpoczynają mitozę, ale jej nie kończą, co skutkuje powstaniem komórek o zwielokrotnionej ploidalności genomu [9]. Na endocykl składają się powtarzające się fazy S i G, w wyniku których powstają komórki z pojedynczym poliploidalnym jądrem [13,15]. Charakterystyczne dla endocyklu jest wyraźne podwojenie ilości DNA, co odróżnia ten mechanizm od nieprawidłowego procesu re-replikacji, który charakteryzuje się niekontrolowaną, ciągłą reinicjacją syntezy DNA w fazie S, w wyniku której dochodzi do wzrostu zawartości DNA bez wyraźnie rozpoznawalnych podwojeń genomu [13,16]. Komórki endomitotyczne osiągają metafazę lub anafazę, ale nie przechodzą cytokinezy, co skutkuje poliploidalnymi jądrami, natomiast komórki endocykliczne nie wykazują cech mitozy, takich jak rozpad otoczki jądrowej lub kondensacja chromosomów [13].

Endoreduplikacja może być wywoływana przez różne czynniki, takie jak promieniowanie UV, hipoksja [17] czy terapie przeciwnowotworowe, w tym radioterapię i chemioterapię obejmującą różne grupy leków przeciwnowotworowych m.in.: czynniki alkilujące (mitomycyna C) [18], taksany (winkrystyna) [19,20], związki zawierające platynę (cisplatyna) [21,22] czy inhibitory topoizomerazy II (dokso-rubicyna, etopozyd) [23-25].

Proces endoreduplikacji ułatwia progresję nowotworu zwiększając tolerancję na błędy replikacji DNA. W prawidłowych komórkach po wystąpieniu kilku rund re-replikacji aktywacji ulega szlak odpowiedzi na uszkodzenia DNA (DDR) - ATM-CHEK2-p53 uruchamiany po wystąpieniu dwuniciowych pęknięć DNA w komórkach dzielących się na drodze mitozy [26]. W dalszej kolejności prowadzi to do zatrzymania cyklu komórkowego i naprawy uszkodzeń na drodze rekombinacji homologicznej (HR) lub niehomologicznego łączenia końców (NHEJ) [27], bądź do śmierci komórki na drodze apoptozy. Natomiast komórki endocykliczne unikają apoptozy poprzez hamowanie ekspresji genów proapoptotycznych [26]. Wyniki Mehrotra i wsp. sugerują, że komórki endocykliczne nie ulegają apoptozie, ponieważ równowaga ekspresji pomiędzy genami pro- i anty-apoptotycznymi jest przechylona w kierunku przetrwania komórek w endocyklu [26]. W komórkach tych często obserwuje się mutację w genie *TP53*.

Zahamowanie procesu mitozy warunkuje zajście endoreduplikacji lub endocyklu. Zmiany w aktywności głównych



Rycina 1. Schematyczne przedstawienie mechanizmów prowadzących do powstania poliploidii: endoreduplikacji, proces ten może zachodzić poprzez powtarzanie faz G i S cyklu komórkowego (endocykl), wielokrotne powtarzanie fazy S cyklu komórkowego (re-replikacja) lub pomijanie etapów mitozy w trakcie cyklu komórkowego (endomitoza); poślizgu mitotycznego, nieprawidłowej cytokinezy, fuzji komórek i kanibalizmu komórkowego (entozy). W wyniku tych procesów mogą powstawać komórki poliploidalne z jednym lub wieloma jądrami komórkowymi.

regulatorów cyklu komórkowego – kompleksów cyklin i kinaz zależnych od cyklin (cdks) prowadzą do inaktywacji kinazy mitotycznej cdk1 [28]. U ssaków i *Drosophila* w trakcie endoreduplikacji poziom mitotycznych cyklin A i B lub tylko cykliny B ulega obniżeniu, podczas gdy poziom cykliny E utrzymuje się. Naprzemienne fazy S i G endocyklu są częściowo regulowane przez kompleks cykliny E-Cdk2, którego akumulacja jest kluczowa dla syntezy DNA [28]. Wysoki poziom aktywności CycE-Cdk2 wyzwala fazę S, podczas gdy obniżenie aktywności CycE-Cdk2 jest kluczowe dla rozpoczęcia replikacji [29]. W konsekwencji komórki przechodzą rundy replikacji DNA i wzrostu bez podziału. Również regulatory fazy G₂, mitozy i cytokinezy odgrywają rolę w endoreduplikacji [26]. Częsteczkami kontrolujące cytoskielet, brudzę podziału komórkowego lub cytotokinetyczny pierścień aktyno-miozynowy, takie jak RhoA, odgrywają rolę w endomitozie. Na przykład, zróżnicowane

hamowanie RhoA napędza endomitozę i późniejszą poliploidyzację w megakariocytach [30]. Kinazy Aurora i polo-podobne (PLKs) są zaangażowane w punkt kontrolny montażu wrzeciona (SAC), a ich deregulacja może prowadzić do niewydolności cytokinezy poprzez nieprawidłową segregację chromosomów [31]. Kolejnym czynnikiem istotnym w procesie endoreduplikacji jest Anaphase-Promoting Complex/Cyclosome (APC/C), który degraduje między innymi mitotyczne cykliny, aby zapobiec wejściu komórki w mitozę. Obniżenie aktywności APC/C skutkuje stabilizacją białka Gemininy, która zapobiega ponownej replikacji DNA w fazie S i blokuje progresję endocyklu [29]. Wahania poziomu APC/C podczas endoreduplikacji sprzyjają progresji endocyklu [28].

Opisane przykłady interakcji pomiędzy kluczowymi dla podziałów mitotycznych białkami umożliwiającą zachodzenie wspomnianych wariantów endoreduplikacji.

Poślizg mitotyczny, czyli niekompletna mitoza, może skutkować podwojeniem genomu w interfazie [32]. Komórki nie przechodzą cytokinezy, czyli podziału cytoplazmy i organelli, która jest ostatnim etapem podziału komórkowego. Proces cytokinezy zachodzi tuż po mitozie. W środkowej części komórki powstaje kurczliwy pierścień zbudowany z aktyny, miozyny i innych białek. Skurcz pierścienia prowadzi do powstania bruzdy podziałowej, która wraz z postępowaniem cytokinezy tworzy barierę błonową między zawartością cytoplazmatyczną każdej komórki potomnej. Kurcząca się bruzda zwięża składniki strefy środkowej wrzeczona podziałowego w strukturę zwaną ciałem środkowym. W końcowym etapie cytokinezy bruzda „zamyka się”, tworząc dwie oddzielne komórki. Do przerwania cytokinezy może prowadzić rozregulowanie punktów kontrolnych cyklu komórkowego, a to z kolei może skutkować powstawaniem komórek tetraploidalnych i poliploidalnych [33]. Za jeden z mechanizmów mogących mieć istotny związek z aneuploidią i poliploidią w komórkach nowotworowych uważana jest nadmierna aktywacja punktu kontrolnego składania wrzeczona kariokinetycznego SAC (ang. *spindle assembly checkpoint*), który zapewnia dwubiegunowe mocowanie wrzeczona podziałowego przed rozpoczęciem anafazy [34]. Kluczowym białkiem zaangażowanym w SAC jest ligaza ubikwityny E3, CDC20, która wiąże się z białkami mitotycznego punktu kontrolnego: Mad2 (ang. *mitotic arrest-deficient 2*) i BubR1 (ang. *budding uninhibited by benzimidazoles related 1*), a następnie hamuje mediowaną przez APC/C ubikwitynację cykliny B i sekuryiny [35], co w normalnych komórkach prowadzi do anafazy. Uważa się, że nadmierna aktywacja Mad2 jest odpowiedzialna za indukcję aneuploidii i poliploidii w nowotworach [34], a nadekspresja Mad2 powoduje poliploidię w wyniku niepowodzenia cytokinezy [36].

Zwielokrotniona liczba chromosomów będąca następstwem poślizgu mitotycznego pozostaje w obrębie jednej poliploidalnej komórki. Czynnikiem prowadzącym do tego zjawiska jest chemioterapia indukująca uszkodzenia DNA oraz zatrzymanie syntezy lub depolimeryzacji mikrotubul [37]. Pierwszy przypadek mogą reprezentować komórki potrójnie ujemnego raka piersi (ang. *triple negative breast cancer* - TNBC) - linia MDA-MB-231 z mutacją w genie *TP53*, które odpowiadały na działanie antracykliny - doksorubicyny poliploidią zachodzącą na drodze poślizgu mitotycznego. Również antymetabolity takie jak 5-fluorouracyl w połączeniu z sulforafanem mogą prowadzić do poliploidii w komórkach TNBC [38]. Innym lekiem powodującym nieprawidłową cytokinezę i w konsekwencji powstawanie poliploidii w komórkach niedrobnokomórkowego raka płuc z niedoborem ERCC1 (ang. *excision repair cross-complementation group 1*) była cisplatyna [39]. Z kolei taksany hamują funkcję wrzeczona podziałowego a tym samym podział komórki, co może prowadzić do zajścia niepełnego cyklu komórkowego - bez cytokinezy i indukcji tetraploidii [40]. Badania prowadzone na komórkach jajnika (komórki chomika CHO i człowieka A2780) wykazały, że taksol prowadził do zablokowania mitozy, jednak komórki przełamywały blok

mitotyczny i kontynuowały cykl komórkowy bez cytokinezy tworząc wielojądrzaste komórki poliploidalne [41].

FUZJA KOMÓREK

Innym sposobem powstawania poliploidii jest fuzja dwóch komórek, która może zachodzić między komórkami tego samego lub innego typu. Fuzja komórek nowotworowych jest zjawiskiem występującym m.in. w guzach litych i prowadzi do wytworzenia subpopulacji komórek nowotworowych o większej zawartości DNA [42]. Ponadto, fuzja komórek zróżnicowanych z komórkami macierzystymi może odpowiadać za powstawanie nowotworowych komórek macierzystych, które stanowią niewielki odsetek komórek masy guza, ale są kluczowe dla wczesnych etapów jego wzrostu. Fuzja między komórkami nowotworowymi a komórkami śródbłonka czy limfatycznymi może ułatwiać angiogenezę (proces tworzenia się naczyń krwionośnych) i limfangiogenezę (powstawanie naczyń limfatycznych) w obrębie guza, a tym samym przyspieszać jego wzrost [43]. Niedotlenienie jest opisywane jako jeden z czynników wyzwalających fuzję komórek i tworzenie PGCC [6,10], ale inne warunki, takie jak radioterapia [44] i chemioterapia [45], również mogą sprzyjać temu procesowi. W komórkach glejaka śmiertelna dawka promieniowania selekcjonuje oporną subpopulację (7-10% komórek), która przejściowo zatrzymuje się w fazie G2/M i przeżywa terapię. Ocenia się, że komórki te powstają w wyniku fuzji. Badania przeprowadzone na mieszanym kulturach zawierających komórki znakowane zielonymi i czerwonymi reporterami fluorescencyjnymi eksponowanymi na promieniowanie wykazały, że większość komórek, które przeżyły eksperyment emitowała żółty sygnał [44]. Wydaje się jednak, że mechanizm ten nie jest jednym z częstszych sposobów powstawania poliploidii. W komórkach raka piersi i jajnika tylko 10-20% PGCC powstało w wyniku fuzji, a w komórkach śluzakowłókniakomiesaka (ang. *myxofibrosarcoma*) tylko jedna z wielu PGCC powstała w wyniku tego mechanizmu [46].

KANIBALIZM KOMÓRKOWY

Kanibalizm komórkowy (entoza) jest definiowany jako proces wchłaniania jednej komórki przez drugą, co skutkuje pojawieniem się całych komórek w dużych wakuolach i może prowadzić do poliploidii w nowotworach [47]. Podobnie jak fuzja proces ten może zachodzić między komórkami różnych typów lub między komórkami tego samego rodzaju, jednak najczęściej obserwowany jest między komórkami nowotworowymi i jest wskaźnikiem złego rokowania [48-50]. Kanibalizm komórkowy można uznać za mechanizm przetrwania w niekorzystnych warunkach, takich jak niedobór składników odżywczych, niedotlenienie lub kwaśne pH [6]. Entoza obejmuje tworzenie połączeń adhezyjnych między komórkami nabłonkowymi, w których pośredniczy E-kadheryna, a następnie pochłanianie w sposób zależny od Rho-GTPazy i kinazy Rho [6,51]. Wykazano, że kanibalizm komórkowy może prowadzić do progresji nowotworu poprzez indukowanie poliploidii w komórkach. Do tworzenia poliploidii dochodzi na skutek zakłócenia podziału komórkowego, ponieważ wchłonięta komórka stanowi fizyczną przeszkodę w cytoplazmie gospodarza, co uniemożliwia prawidłowe zakończenie cytokinezy i podziału komór-

ki[50]. W rezultacie komórka zewnętrzna może ulec poliploidyzacji.

ZNACZENIE KOMÓREK WIELOJĄDRZASTYCH W OPORNOŚCI NA LEKI, PROGRESJI NOWOTWORÓW ORAZ GENEZA KOMÓREK POTOMNYCH O FENOTYPIE OPORNYM

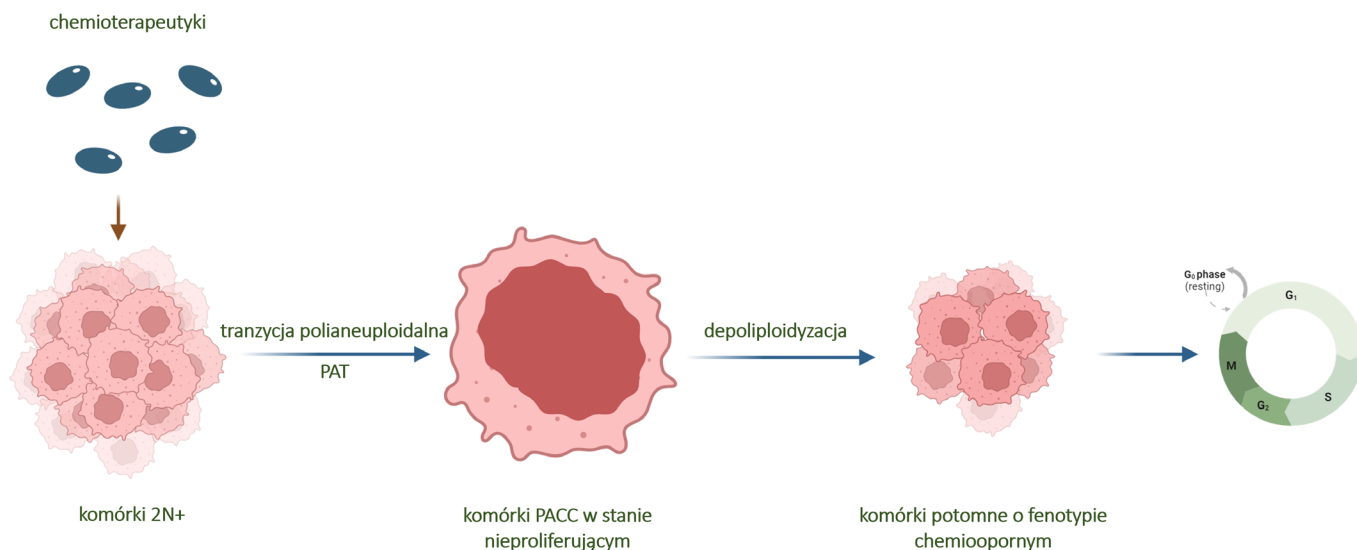
Zjawisko poliploidii pojawia się przede wszystkim jako skutek działania leków cytotoksycznych, które pozostają podstawową i najczęstszą metodą leczenia nowotworów. Cisplatyna, doksorubicyna (Adriamycyna), docetaksel (Taksotere), irynotekan (CPT-11, Camptosar®), czy pemetreksed (Alimta) to cytostatyki powszechnie wykorzystywane w leczeniu, między innymi raka szyjki macicy, raka płuc czy raka piersi. Was i wsp. w swojej pracy określili istotną rolę wymienionych leków w formowaniu się poliploidalnych komórek olbrzymich [6]. Cechą komórek poliploidalnych jest ich możliwość przetrwania terapii poprzez przejście w stan „spoczynku”, pozwalający na ochronę DNA przed uszkodzeniami dzięki zatrzymaniu podziałów mitotycznych. PGCC charakteryzują się także zwiększoną zdolnością do inwazji i wyższym potencjałem przerzutowym [52]. Poza opornością na cytostatyki wykazują one zwiększoną ekspresję genów oporności na stres wywołany takimi czynnikami jak niedotlenienie (hipoksja), ciśnienie mechaniczne, czy stan zakwaszenia środowiska, które są typowe dla środowiska wewnątrz guza [53].

Bukkuri i współautorzy stworzyli matematyczne modele do badania zjawiska oporności w populacjach komórek poddanych chemioterapii. Według nich aneuploidalne komórki nowotworowe, charakteryzujące się anormalną liczbą chromosomów $2N+$, ich zmianami strukturalnymi, delecjami i amplifikacjami, mogą przejść do stanu nieproliferacyjnego (PACC – odpowiednik PGCC) poprzez polianeuploidalną tranzycję [54]. Stan spoczynku PACC pojawia się jako następstwo endocyklu, który prowadzi do podwojenia materiału genomowego, w wyniku czego komórka posiada więcej materiału genetycznego niż w klasycznej fazie G_2 . Komórki wprowadzone w stan PACC wyzwalają

proces ewolucyjności, który polega na zdolności do generowania dziedzicznej oraz adaptacyjnej zmienności fenotypowej [55]. Proces depoliploidyacji umożliwia komórkom powrót do stanu $2N+$, a tym samym kontynuację cyklu komórkowego i ponowny podział [54]. W następstwie tego zjawiska powstają komórki o fenotypie chemoopornym (Ryc. 2).

Obecnie wyróżnia się dwa procesy, które prowadzą do redukcji poliploidalności. Zespół z Shanghaiu w badaniach *in vitro* i *in vivo* zaobserwował unikalny mechanizm podziału komórkowego PGCC zwany neozą [7]. Ten typ podziału charakteryzuje się kariokinezą, która zachodzi w wyniku pączkowania jądrowego. W kolejnym etapie komórka przechodzi proces asymetrycznej cytokinezy, która prowadzi do powstania jednojądrzastych, diploidalnych i aneuploidalnych komórek „Raju” [56]. W procesie tym ekspresji ulegają geny typowe dla mejozy. Powstałe w procesie depoliploidyacji poliploidalne komórki nowotworowe $2N+$ mają możliwość powrotu do stanu diploidalnego [7]. Drugi typ redukcji poliploidalności polega na rozdzieleniu chromatyd siostrzanych na dwie komórki potomne w tak zwanym „późnym okresie mitozy”. W rezultacie następuje proces redukcji ze stanu tetraploidalnego do diploidalnego. Po tym etapie w ramach mejozy następują dwie dodatkowe transformacje eliminujące ploidalność komórki tetraploidalnej do haploidalnej [7].

Jedną z dwóch hipotez tłumaczących powstawanie oporności krzyżowej nowotworów na chemioterapeutyki o różnej strukturze chemicznej i niezależnym sposobie działania, jest wpływ pamięci PGCC i skrócony czas ponownej tranzycji polianeuploidalnej po kolejnej dawce leków. Druga z badanych hipotez uwzględnia wyższy poziom wrodzonej oporności na chemioterapeutyki. Zespół badawczy do zweryfikowania hipotez wykorzystał stochastyczną symulację eko-ewolucyjnej dynamiki badanych populacji komórek nowotworowych, jednakże żadna z dwóch hipotez nie została dotychczas zweryfikowana eksperymentalnie.



Rycina 2. Schemat przedstawiający procesy prowadzące do powstania komórek w stanie spoczynku PACC, a następnie komórek potomnych o fenotypie opornym.

Coraz częściej mówi się o związku oraz podobieństwach komórek w stanie PACC/PGCC do komórek, w których starzenie zostało wyindukowane w następstwie terapii. Sikora i współautorzy wyróżnili starzenie (ang. *therapy-induced senescence* – TIS) i poliploidię (ang. *therapy-induced poliploidy* – TIP) jako dwa typy odpowiedzi na działanie terapii przeciwnowotworowych. W przypadku obydwu typów komórek obserwuje się zatrzymanie podziałów komórkowych w następstwie aktywacji szlaków p53 i Rb, częstą autofagię, wyższy poziom uszkodzeń DNA, podobny profil ekspresji wielu genów i przywrócenie ekspresji genów charakterystycznych dla komórek macierzystych. W przeciwieństwie do PACC/PGCC, które na drodze depoliploidyacji mogą odzyskać zdolność do proliferacji, zatrzymanie komórek starzejących się w fazie G0 lub G1 cyklu uniemożliwia im powrót do mitozy i uniknięcie śmierci. Zaproponowano jednak, że starzejące się komórki nowotworowe mogą zmieniać się w komórki poliploidalne, aby uniknąć śmierci wywołanej leczeniem przeciwnowotworowym [57, 58].

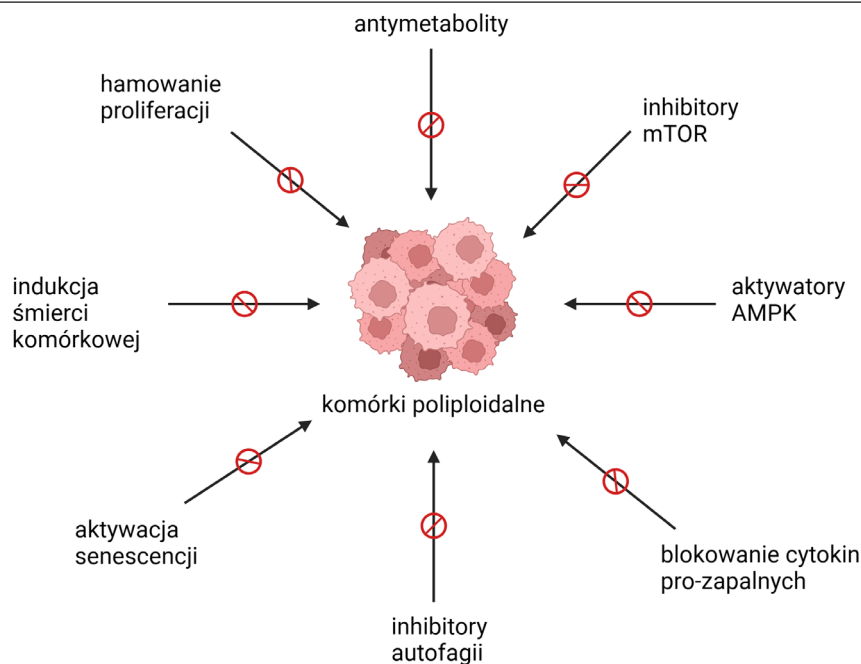
Macierzyste właściwości PACC/PGCC przejawiają się głównie poprzez profil ekspresji genów takich jak *CD44* i *CD133*, co skłoniło do porównania ich do nowotworowych komórek macierzystych. Względnie wysoki poziom białek *SOX2*, *Nanog* i *OCT4* zapewnia im zdolność do ponownej proliferacji i różnicowania w wiele typów komórek. Ponadto, pierwsza generacja komórek potomnych posiada markery typowe dla macierzystych komórek nowotworowych [7]. Niu i inni wykazali, że PGCC formujące się w raku jajnika posiadają podwyższoną ekspresję markerów embrjonalnych komórek macierzystych, takich jak *OCT4*, *NANOG*, *SOX2* i *SOX4* [45]. Komórki potomne pochodzące z PGCC wykazywały co prawda obniżoną zdolność do inwazji, ale zwiększoną oporność na paklitaksel. Wyższą częstość komórek poliploidalnych zaobserwowano u pacjentów z nowotworami terminalnymi, u których nowotwór nie reaguje

na leczenie, a powstawanie komórek anaplastycznych PGCC nasilało się po kolejnych cyklach chemioterapii [45]. Ponadto, PGCC spotykane są częściej w przerzutach niż w nowotworach pierwotnych. Zależność tą zaobserwowano podczas hodowli porównawczej pierwotnego guza trzustki i przerzutów do otrzewnej [59]. W badaniach przeprowadzonych przez Pienta i innych pokazano, że w wyniku 6-dniowego traktowania komórek raka prostaty PC3 docetaxelem w hodowli pozostają niemal wyłącznie komórki o fenotypie poliploidalnym, co jednoznacznie wskazuje na ich charakter oporny względem tego chemioterapeutyku [52].

W dwóch liniach raka jajnika A2789 i SCOV-3 zaobserwowano powstawanie znacznej liczby komórek poliploidalnych o wielkości do 100 µm po 7 dniach od zakończenia 72-godzinnej inkubacji hodowli z cisplatyną. Pomiar zawartości materiału genetycznego w komórkach PGCC wskazał na 2,0- i 4,7-krotny wzrost zawartości DNA względem komórek diploidalnych. W przytoczonym przykładzie polinukleacja okazała się być również mechanizmem oporności na cisplatynę [53]. Ponadto, warunki naśladujące niedotlenienie wywołane inkubacją komórek raka jajnika z chlorkiem kobaltu (CoCl_2) także prowadziły do indukcji komórek PGCC opornych na pochodną platyny. Traktowanie linii MCF7 (rak piersi), T29H (rak jajnika) oraz HEY (rak jajnika) paklitakselem w stężeniu 1 µM indukowało tranzycję polineuploidalną oraz przejście komórek do stanu statycznego PGCC trwającego od 4 do 6 miesięcy, po którym rozpoczęła się neoza i generowanie komórek potomnych [60].

PERSPEKTYWY HAMOWANIA POLIPLIIDII INDUKOWANEJ CHEMIO- I RADIOTERAPIĄ ORAZ ELIMINOWANIA KOMÓREK POLIPLIOIDALNYCH

Ponieważ powstawanie poliploidalnych komórek nowotworowych w znaczącym stopniu ogranicza powodzenie terapii, badacze starają się opracować nowe podejścia tera-



Rycina 3. Schematyczne przedstawienie głównych proponowanych rozwiązań terapeutycznych w celu zwalczania poliploidalnych olbrzymich komórek nowotworowych.

peutyczne celujące w PGCC, a także hamujące ich powstawanie (Ryc. 3). Pod tym kątem wyłoniono kilka istotnych różnic pomiędzy komórkami poliploidalnymi i diploidalnymi. Pierwszą z nich jest duży rozmiar genomu i zwiększona objętość komórek poliploidalnych, które w konsekwencji zwiększają zapotrzebowanie energetyczne. Ponadto, zwiększona ekspresja mRNA i białek spowodowana zwiększoną zawartością DNA wymaga większych nakładów metabolicznych. Wykazano, że komórki poliploidalne ostrej białaczki szpikowej były wrażliwe na działanie analogu glukozy 2-DG. Sugeruje to, że hamowanie istotnych szlaków metabolizmu komórkowego może preferencyjnie zabijać poliploidalne komórki nowotworowe [5]. PGCC indukowane terapią cisplastynową charakteryzowały się zwiększoną zawartością lipidów w porównaniu z nieleczonymi komórkami nowotworowymi. Terapia kwasem zoledronowym (ZA), redukująca poziom tłuszczowców (lipidów) miała silny wpływ hamujący na PGCC, prowadząc do znacznej zmiany w ich aktywności metabolicznej [61]. Podobnie, zaburzenie syntezy cholesterolu za pomocą LCL521 lub symwastatyny zapobiegało tworzeniu kolonii potomnych PGCC [62]. Również specyficzne inhibitory kinazy serynowo-treoninowej mTOR, która łączy przekazywanie sygnału komórkowego z metabolizmem i proliferacją komórek, promują apoptozę i autofagię w komórkach nowotworowych ostrej białaczki szpikowej z poliploidią. Dodatkowo zwiększają skuteczność inhibitorów kinazy Aurora, potwierdzając tym samym, że metabolizm nowotworu może stanowić realny punkt interwencji terapeutycznej przeciwko komórkom nowotworowym z poliploidią. Hamowanie sygnalizacji mTOR zapobiegało powstawaniu poliploidii wywołanej terapią i utrzymywało wrażliwość komórek raka piersi i trzustki na działanie chemioterapii [5]. System kinaz białkowych aktywowanych AMP (AMPK), będący konserwatywnym ewolucyjnie punktem kontrolnym niskiego poziomu energii i działającym jako kanoniczny supresor proliferacji komórek, może być również celem molekularnym przeciwko poliploidii. Aktywacja AMPK przy użyciu inhibitora PDE-4, resweratrolu, salicylanu acetylu (aspiryny) oraz nadekspresja AMPK selektywnie zwalczają komórki tetraploidalne. Wymienione przykłady sugerują, że aktywacja AMPK przy użyciu naturalnych produktów, resweratrolu i aspiryny, może być wykorzystana do specyficznego celowania w tetraploidalne komórki nowotworowe w warunkach *in vitro* i *in vivo* [5].

Kolejną cechą wyróżniającą komórki poliploidalne jest profil ekspresji i wydzielania przez nie cytokin. Mediatory pro-zapalne takie jak interleukiny: IL-6, IL-8, IL-1 β i Gro-1, ulegają nasilonej ekspresji w PGCC w odpowiedzi na szok genotoksyczny wywołany lekiem, a ich sekrecja prowadzi do przeprogramowania mikrośrodowiska nowotworu, promując w ten sposób jego rozwój. Zablockowanie funkcji IL-6 przy użyciu specyficznego przeciwciała (tocilizumab) zmniejszyło wzrost guza u myszy z przeszczepionymi komórkami pochodzącymi od pacjentów [63]. W innym badaniu wykazano, że hamowanie IL-1 β wzmacniało proapoptotyczne działanie docetakselu w PGCC [64]. Identyfikacja białek, które są niezbędne do przeżycia czy późniejszych podziałów komórek o zwiększonej ploidalności oraz do proliferacji komórek potomnych stanowi obiecującą strategię do walki z PGCC. Wykazano, że komórki z duplikacją

całego genomu są bardziej zależne od KIF18A w porównaniu do ich normalnych odpowiedników [65]. Białko KIF18A należące do nadrodziny kinezyn wykorzystuje hydrolizę ATP do depolimeryzacji mikrotubul w czasie podziałów mitotycznych, będąc tym samym istotnym elementem systemu umożliwiającego proliferację komórek. Białkiem zaangażowanym w powstawanie PGCC jest PRL3, ulegające specyficznej nadekspresji w 80,6% nowotworów. Badania na modelu mysim wskazały skuteczność immunoterapii opartej na humanizowanym przeciwciele PRL3-zumab, która ograniczała nawrót nowotworu [66]. W pierwszej fazie badań klinicznych nad nowotworami opornymi na leczenie i hematologicznymi przeciwciała to okazało się być skuteczne u części pacjentów z guzami litymi [67].

Kolejnym podejściem do problemu poliploidalności są próby indukowania senescencji i śmierci komórkowej [63]. Flawopirydol, inhibitor kinaz zależnych od cyklina (CDK) o szerokim spektrum działania wykazał potencjał do zmniejszenia indukcji PGCC przez leki oddziałujące na wrzeciono podziałowe. Leczenie flawopirydołem zatrzymało komórki nowotworowe w fazie G1 i zapobiegało tworzeniu komórek poliploidalnych poprzez endoreduplikację [68]. Z kolei zablockowanie białka mitotycznego PLK1 zmniejszało przeżycie tetraploidalnych komórek nowotworu jelita grubego [69]. Inhibitory HDAC (deacetylazy histonów) hamują proliferację komórek nowotworowych i nowotworowych komórek macierzystych, tranzycję epithelialno-mezenchymalną i samoodnowę guzów, ograniczając tym samym inwazję raka i przerzuty. Badania wykazały, że inhibitory HDAC znacząco zmniejszają pulę PGCC indukowanych lekami przeciwnowotworowymi [70,71]. Hamowanie aktywności białek antyapoptotycznych może być strategią eliminacji komórek wielojądrzastych. Zahamowanie aktywności Bcl-xL przez drobnocząsteczkowy inhibitor ABT-263 lub siRNA powoduje szybki zanik komórek poliploidalnych w populacji komórek ostrej białaczki szpikowej [72]. W przypadku chłoniaków z komórek B zastosowanie Venetoclaxu, który jest inhibitorem BCL-2, umożliwiło eliminację komórek PGCC [73]. PGCC wykazują niedostateczną ekspresję regulatorów ferroptozy (FTL, FTH1 i SLC3A2) i zwiększony poziom RFT, co charakteryzuje komórki wrażliwe na zależną od żelaza nieapoptotyczną śmierć komórek. Potwierdzono to w badaniach z użyciem 5 induktorów ferroptozy, których mechanizm działania opierał się na hamowaniu peroksydazy glutationowej 4 (RSL3, ML162, FINO2 i ML210) lub systemie Xc- (IKE). Wszystkie analizowane związki obniżały przeżywalność PGCC nowotworu piersi [70].

Wykazano, że autofagia odgrywa kluczową rolę w indukcji PGCC. Modulatory autofagii takie jak hydroksychlorochina, nelfinawir i rapamycyna zastosowane po chemioterapii redukowały liczbę powstających PGCC w raku jajnika i mogą w przyszłości stać się istotnym elementem skojarzonych terapii przeciwnowotworowych [74].

Hipoksja sprzyja powstawaniu PGCC, dlatego celowanie w niedotlenione mikrośrodowisko guza lub w odpowiedź komórek na ograniczony dostęp do tlenu może hamować poliploidię [10]. W komórkach poliploidalnych indukowanych CoCl₂ ekspresja HIF1 α , głównego czynnika transkrypcyjnego aktywowanego niedoborem tlenu, istotnie wzra-

stała. Zmianie ulegała także subkomórkowa lokalizacja tego białka, co przekładało się na zwiększoną proliferację, migrację i inwazję komórek potomnych wywodzących się z komórek poliploidalnych poddanych hipoksji. Wykazano, że czynnik transkrypcyjny związany z mikroftalmią (MITF) reguluje ekspresję HIF1 α oraz SUMOilację tego białka [75]. Terapie celujące w MITF oraz HIF1 α mogą zapobiegać powstawaniu PGCC.

Zaproponowano również inne rozwiązania ukierunkowane na PGCC, jednakże ich mechanizm nie został do końca poznany. Dla przykładu, środek antykoncepcyjny mifepriston blokuje tworzenie komórek poliploidalnych podczas terapii olaparibem oraz redukuje wzrost guzów opornych na terapię inhibitorem PARP. Wśród potencjalnych mechanizmów wyróżnia się promowanie różnicowania PGCC i komórek potomnych w kierunku linii łagodnych oraz blokowanie działania receptora glukokortykoidowego przez mifepriston [76]. Związek antyestrogenowy tamoksyfen może przynosić korzyści kliniczne w leczeniu raka prostaty, glejaka i czerniaka, niezależnie od sygnalizacji estrogenu. Może to wynikać z hamowania kwaśnej ceramidazy ASAH1, co zapobiega podziałom amitotycznym PGCC z nierówną dystrybucją materiału genetycznego do komórek potomnych [77].

Dokładne poznanie specyfiki komórek poliploidalnych, ich cech charakterystycznych, swoistych markerów i wewnątrzkomórkowych procesów inicjujących ponowne podziały po etapie ich tymczasowego zahamowania może ujawnić nowe cele terapeutyczne do kontrolowania progresji raka oraz niesie ze sobą wizję poprawy skuteczności leczenia nowotworów za pomocą radio- i chemioterapii.

PODSUMOWANIE

Z punktu widzenia skuteczności terapii przeciwnowotworowych zasadne jest równoległe zapobieganie powstawaniu komórek poliploidalnych oraz ich efektywna eliminacja w trakcie radioterapii i chemioterapii. Obecnie proponowane i testowane podejścia opierają się głównie na wykorzystaniu związków ingerujących w sygnalizację komórkową i metabolizm komórek PGCC. W dalszym ciągu nie wiemy czym charakteryzują się komórki, które mogą wchodzić w cykle endoreduplikacji, unikać mitozy, ulegać fuzji czy wchłaniać komórki sąsiadujące. Wydaje się, że obecnie stosowane techniki takie jak sekwencjonowanie pojedynczych komórek mogłoby pomóc zidentyfikować frakcje komórek w populacji i wyłonić potencjalne prekursorzy PGCC. Brakuje również danych dotyczących profilu ekspresji genów i prawdopodobnych zmian w genomach komórek potomnych PGCC. Czy neoza, asymetryczna mitoz i podział podobny do mejozy odtwarzają dokładnie genomy komórek diploidalnych lub polianeuploidalnych sprzed fazy PGCC? Czy też przekazują tylko „pamięć” w formie modyfikacji potranslacyjnych chromatyny i DNA prowadzące do innej ekspresji genów, a przez to adaptacji komórek potomnych do środowiska, w którym działają czynniki geno- i cytotoksyczne? Postęp w zakresie nowych technologii niewątpliwie ułatwi uzyskanie odpowiedzi na te i wiele innych nasuwających się pytań, które mogą przyczynić się do opracowania terapii skojarzonych, gdzie jeden

z leków wykorzysta słabe punkty komórek poliploidalnych, ich prekursorów lub komórek potomnych.

PIŚMIENNICTWO

- Behranvand N, Nasri F, Zolfaghari Emameh R, Khani P, Hosseini A, Garssen J, Falak R (2022) Chemotherapy: a double-edged sword in cancer treatment. *Cancer Immunol Immunother* 71:507–526. <https://doi.org/10.1007/s00262-021-03013-3>
- Zheng H-C (2017) The molecular mechanisms of chemoresistance in cancers. *Oncotarget* 8:59950–59964. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.19048>
- Khan SU, Fatima K, Aisha S, Malik F (2024) Unveiling the mechanisms and challenges of cancer drug resistance. *Cell Commun Signal* 22:109. <https://doi.org/10.1186/s12964-023-01302-1>
- Zhang J, Qiao Q, Xu H, Zhou R, Liu X (2022) Human cell polyploidization: The good and the evil. *Seminars in Cancer Biology* 81:54–63. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2021.04.005>
- Coward J, Harding A (2014) Size Does Matter: Why Polyploid Tumor Cells are Critical Drug Targets in the War on Cancer. *Front Oncol* 4. <https://doi.org/10.3389/fonc.2014.00123>
- Was H, Borkowska A, Olszewska A, Klemba A, Marciniak M, Synowiec A, Kieda C (2022) Polyploidy formation in cancer cells: How a Trojan horse is born. *Seminars in Cancer Biology* 81:24–36. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2021.03.003>
- Song Y, Zhao Y, Deng Z, Zhao R, Huang Q (2021) Stress-Induced Polyploid Giant Cancer Cells: Unique Way of Formation and Non-Negligible Characteristics. *Front Oncol* 11:724781. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.724781>
- Alameddine RS, Hamieh L, Shamseddine A (2014) From Sprouting Angiogenesis to Erythrocytes Generation by Cancer Stem Cells: Evolving Concepts in Tumor Microcirculation. *BioMed Research International* 2014:1–8. <https://doi.org/10.1155/2014/986768>
- Zhou X, Zhou M, Zheng M, Tian S, Yang X, Ning Y, Li Y, Zhang S (2022) Polyploid giant cancer cells and cancer progression. *Front Cell Dev Biol* 10:1017588. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.1017588>
- Lopez-Sánchez LM, Jimenez C, Valverde A, Hernandez V, Peñarando J, Martinez A, Lopez-Pedraza C, Muñoz-Castañeda JR, De la Haba-Rodríguez JR, Aranda E i inni (2014) CoCl₂, a Mimic of Hypoxia, Induces Formation of Polyploid Giant Cells with Stem Characteristics in Colon Cancer. *PLoS ONE* 9:e99143. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099143>
- Zhang S, Mercado-Urbe I, Xing Z, Sun B, Kuang J, Liu J (2014) Generation of cancer stem-like cells through the formation of polyploid giant cancer cells. *Oncogene* 33:116–128. <https://doi.org/10.1038/onc.2013.96>
- Moein S, Adibi R, da Silva Meirelles L, Nardi NB, Gheisari Y (2020) Cancer regeneration: Polyploid cells are the key drivers of tumor progression. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer* 1874:188408. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2020.188408>
- Lee HO, Davidson JM, Duronio RJ (2009) Endoreplication: polyploidy with purpose. *Genes Dev* 23:2461–2477. <https://doi.org/10.1101/gad.1829209>
- Edgar BA, Orr-Weaver TL (2001) Endoreplication Cell Cycles. *Cell* 105:297–306. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(01\)00334-8](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(01)00334-8)
- Lilly MA, Duronio RJ (2005) New insights into cell cycle control from the *Drosophila* endocycle. *Oncogene* 24:2765–2775. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1208610>
- Zhong W, Feng H, Santiago FE, Kipreos ET (2003) CUL-4 ubiquitin ligase maintains genome stability by restraining DNA-replication licensing. *Nature* 423:885–889. <https://doi.org/10.1038/nature01747>
- Parekh A, Das S, Parida S, Das CK, Dutta D, Mallick SK, Wu PH, Kumar BNP, Bharti R, Dey G i inni (2018) Multi-nucleated cells use ROS to induce breast cancer chemo-resistance in vitro and in vivo. *Oncogene* 37:4546–4561. <https://doi.org/10.1038/s41388-018-0272-6>
- Cartsburg O, Kallen C, Hillenkamp J, Sundmacher R, Pomjanski N, Böcking A (2001) Topical Mitomycin C and Radiation Induce Con-

- junctival DNA-Polyploidy. *Analytical Cellular Pathology* 23:65-74. <https://doi.org/10.1155/2001/961735>
19. Mann J, Yang N, Montpetit R, Kirschenman R, Lemieux H, Goping IS (2020) BAD sensitizes breast cancer cells to docetaxel with increased mitotic arrest and necroptosis. *Sci Rep* 10:355. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-57282-1>
 20. Wertz IE, Kusam S, Lam C, Okamoto T, Sandoval W, Anderson DJ, Helgason E, Ernst JA, Eby M, Liu J i inni (2011) Sensitivity to anti-tubulin chemotherapeutics is regulated by MCL1 and FBW7. *Nature* 471:110-114. <https://doi.org/10.1038/nature09779>
 21. Yeung T, Fung O, Bashkurov M, Khandani A, Subedar O, Wudwud A, Shaw P, Clarke B, Bartlett J, Rottapel R i inni (2019) Avoidance of apoptotic death via a hyperploidy salvage survival pathway after platinum treatment in high grade serous carcinoma cell line models. *Oncotarget* 10:6691-6712. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.27330>
 22. Wolf KW, Mentzel M, Mendoza AS (1996) Treatment with the anti-tumor drugs, cis-platin and mafosfamide, does not affect the structure of prekinetochores in a human breast cancer cell line. An immunofluorescence study using human antacentromere autoantibodies. *Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger* 178:425-432. [https://doi.org/10.1016/S0940-9602\(96\)80132-4](https://doi.org/10.1016/S0940-9602(96)80132-4)
 23. Cortés F, Mateos S, Pastor N, Domínguez I (2004) Toward a comprehensive model for induced endoreduplication. *Life Sciences* 76:121-135. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2004.08.006>
 24. Vigneron A, Roninson IB, Gamelin E, Coqueret O (2005) Src Inhibits Adriamycin-Induced Senescence and G2 Checkpoint Arrest by Blocking the Induction of p21waf1. *Cancer Research* 65:8927-8935. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-0461>
 25. Jackson TR, Salmina K, Huna A, Inashkina I, Jankevics E, Riekstina U, Kalnina Z, Ivanov A, Townsend PA, Cragg MS i inni (2013) DNA damage causes TP53-dependent coupling of self-renewal and senescence pathways in embryonal carcinoma cells. *Cell Cycle* 12:430-441. <https://doi.org/10.4161/cc.23285>
 26. Mehrotra S, Maqbool SB, Kolpakas A, Murnen K, Calvi BR (2008) Endocycling cells do not apoptose in response to DNA rereplication genotoxic stress. *Genes Dev* 22:3158-3171. <https://doi.org/10.1101/gad.1710208>
 27. Smith J, Mun Tho L, Xu N, A. Gillespie D (2010) The ATM-Chk2 and ATR-Chk1 Pathways in DNA Damage Signaling and Cancer. In: *Advances in Cancer Research*. Elsevier, pp 73-112
 28. Shu Z, Row S, Deng W-M (2018) Endoreplication: The Good, the Bad, and the Ugly. *Trends in Cell Biology* 28:465-474. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2018.02.006>
 29. Zielke N, Querings S, Rottig C, Lehner C, Sprenger F (2008) The anaphase-promoting complex/cyclosome (APC/C) is required for rereplication control in endoreplication cycles. *Genes Dev* 22:1690-1703. <https://doi.org/10.1101/gad.469108>
 30. Gao Y, Smith E, Ker E, Campbell P, Cheng EC, Zou S, Lin S, Wang L, Halene S, Krause DS (2012) Role of RhoA-Specific Guanine Exchange Factors in Regulation of Endomitosis in Megakaryocytes. *Developmental Cell* 22:573-584. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2011.12.019>
 31. Gandarillas A, Molinuevo R, Sanz-Gómez N (2018) Mammalian endoreplication emerges to reveal a potential developmental timer. *Cell Death Differ* 25:471-476. <https://doi.org/10.1038/s41418-017-0040-0>
 32. Salmina K, Bojko A, Inashkina I, Staniak K, Dudkowska M, Podlesniy P, Rumnieks F, Vainshelbaum NM, Pjanova D, Sikora E i inni (2020) "Mitotic Slippage" and Extracellular DNA in Cancer Chemoresistance: A Focus on Telomeres. *IJMS* 21:2779. <https://doi.org/10.3390/ijms21082779>
 33. Normand G, King RW (2010) Understanding Cytokinesis Failure. In: Poon RYC (ed) *Polyploidization and Cancer*. Springer New York, New York, NY, pp 27-55
 34. Schwartzman J-M, Sotillo R, Benezra R (2010) Mitotic chromosomal instability and cancer: mouse modelling of the human disease. *Nat Rev Cancer* 10:102-115. <https://doi.org/10.1038/nrc2781>
 35. Weaver BAA, Cleveland DW (2009) The role of aneuploidy in promoting and suppressing tumors. *Journal of Cell Biology* 185:935-937. <https://doi.org/10.1083/jcb.200905098>
 36. Sotillo R, Hernando E, Díaz-Rodríguez E, Teruya-Feldstein J, Córdoba-Cardo C, Lowe SW, Benezra R (2007) Mad2 Overexpression Promotes Aneuploidy and Tumorigenesis in Mice. *Cancer Cell* 11:9-23. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2006.10.019>
 37. Balachandran RS, Kipreos ET (2017) Addressing a weakness of anti-cancer therapy with mitosis inhibitors: Mitotic slippage. *Molecular & Cellular Oncology* 4:e1277293. <https://doi.org/10.1080/23723556.2016.1277293>
 38. Milczarek M, Wiktorska K, Mielczarek L, Koronkiewicz M, Dąbrowska A, Lubelska K, Matusiak D, Chilmonczyk Z (2018) Autophagic cell death and premature senescence: New mechanism of 5-fluorouracil and sulforaphane synergistic anticancer effect in MDA-MB-231 triple negative breast cancer cell line. *Food and Chemical Toxicology* 111:1-8. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.10.056>
 39. Friboulet L, Postel-Vinay S, Sourisseau T, Adam J, Stoclin A, Ponsonnailles F, Dorvault N, Commo F, Saulnier P, Salome-Desmoulez S i inni (2013) ERCC1 function in nuclear excision and interstrand crosslink repair pathways is mediated exclusively by the ERCC1-202 isoform. *Cell Cycle* 12:3298-3306. <https://doi.org/10.4161/cc.26309>
 40. Nakayama Y, Inoue T (2016) Antiproliferative Fate of the Tetraploid Formed after Mitotic Slippage and Its Promotion; A Novel Target for Cancer Therapy Based on Microtubule Poisons. *Molecules* 21:663. <https://doi.org/10.3390/molecules21050663>
 41. Lopes NM, Adams EG, Pitts TW, Bhuyan BK (1993) Cell kill kinetics and cell cycle effects of taxol on human and hamster ovarian cell lines. *Cancer Chemother Pharmacol* 32:235-242. <https://doi.org/10.1007/BF00685842>
 42. Wakeling WF, Greetham J, Bennett DC (1994) Efficient Spontaneous Fusion Between Some Co-cultured Cells, Especially Murine Melanoma Cells. *Cell Biology International* 18:207-210. <https://doi.org/10.1006/cbir.1994.1063>
 43. Song K, Song Y, Zhao XP, Shen H, Wang M, Yan TL, Liu K, Shang ZJ (2014) Oral cancer/endothelial cell fusion experiences nuclear fusion and acquisition of enhanced survival potential. *Experimental Cell Research* 328:156-163. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2014.07.006>
 44. Kaur E, Rajendra J, Jadhav S, Shridhar E, Goda JS, Moiyadi A, Dutt S (2015) Radiation-induced homotypic cell fusions of innately resistant glioblastoma cells mediate their sustained survival and recurrence. *Carcinogenesis* 36:685-695. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgv050>
 45. Niu N, Mercado-Urbe I, Liu J (2017) Dedifferentiation into blastomere-like cancer stem cells via formation of polyploid giant cancer cells. *Oncogene* 36:4887-4900. <https://doi.org/10.1038/nc.2017.72>
 46. Ariizumi T, Ogose A, Kawashima H, Hotta T, Umezumi H, Endo N (2009) Multinucleation followed by an acytokinetic cell division in myxofibrosarcoma with giant cell proliferation. *J Exp Clin Cancer Res* 28:44. <https://doi.org/10.1186/1756-9966-28-44>
 47. Overholtzer M, Brugge JS (2008) The cell biology of cell-in-cell structures. *Nat Rev Mol Cell Biol* 9:796-809. <https://doi.org/10.1038/nrm2504>
 48. Sharma N, Dey P (2011) Cell cannibalism and cancer. *Diagnostic Cytopathology* 39:229-233. <https://doi.org/10.1002/dc.21402>
 49. Abodie WT, Dey P, Al-Hattab O (2006) Cell cannibalism in ductal carcinoma of breast. *Cytopathology* 17:304-305. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2303.2006.00326.x>
 50. Krajcovic M, Johnson NB, Sun Q, Normand G, Hoover N, Yao E, Richardson AL, King RW, Cibas ES, Schnitt SJ i inni (2011) A non-genetic route to aneuploidy in human cancers. *Nat Cell Biol* 13:324-330. <https://doi.org/10.1038/ncb2174>
 51. Overholtzer M, Mailleux AA, Mouneimne G, Normand G, Schnitt SJ, King RW, Cibas ES, Brugge JS (2007) A Nonapoptotic Cell Death Process, Entosis, that Occurs by Cell-in-Cell Invasion. *Cell* 131:966-979. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.10.040>
 52. Pienta KJ, Hammarlund EU, Axelrod R, Brown JS, Amend SR (2020) Poly-aneuploid cancer cells promote evolvability, generating lethal cancer. *Evolutionary Applications* 13:1626-1634. <https://doi.org/10.1111/eva.12929>
 53. Adibi R, Moein S, Gheisari Y (2023) Cisplatin-resistant ovarian cancer cells reveal a polyploid phenotype with remarkable activation of nu-

- clear processes. *Adv Biomed Res* 12:77. https://doi.org/10.4103/abr.abr_348_21
54. Bukkuri A, Pienta KJ, Austin RH, Hammarlund EU, Amend SR, Brown JS (2023) A mathematical investigation of polyan euploid cancer cell memory and cross-resistance in state-structured cancer populations. *Sci Rep* 13:15027. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-42368-8>
 55. Payne JL, Wagner A (2019) The causes of evolvability and their evolution. *Nat Rev Genet* 20:24–38. <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0069-z>
 56. Sundaram M, Guernsey DL, Rajaraman MM, Rajaraman R (2004) Neosis: A Novel Type of Cell Division in Cancer. *Cancer Biology & Therapy* 3:207–218. <https://doi.org/10.4161/cbt.3.2.663>
 57. Wang Q, Wu PC, Dong DZ, Ivanova I, Chu E, Zeliadt S, Vesselle H, Wu DY (2013) Polyploidy road to therapy-induced cellular senescence and escape. *Intl Journal of Cancer* 132:1505–1515. <https://doi.org/10.1002/ijc.27810>
 58. Mallin MM, Kim N, Choudhury MI, Lee SJ, An SS, Sun SX, Konstantopoulos K, Pienta KJ, Amend SR (2023) Cells in the polyan euploid cancer cell (PACC) state have increased metastatic potential. *Clin Exp Metastasis* 40:321–338. <https://doi.org/10.1007/s10585-023-10216-8>
 59. Hasegawa K, Suetsugu A, Nakamura M, Matsumoto T, Aoki H, Kunitada T, Shimizu M, Saji S, Moriwaki H, Hoffman RM (2017) Imaging the Role of Multinucleate Pancreatic Cancer Cells and Cancer-Associated Fibroblasts in Peritoneal Metastasis in Mouse Models. *AR* 37. <https://doi.org/10.21873/anticancer.11711>
 60. Zhang S, Mercado-Urbe I, Liu J (2014) Tumor stroma and differentiated cancer cells can be originated directly from polyploid giant cancer cells induced by paclitaxel. *Intl Journal of Cancer* 134:508–518. <https://doi.org/10.1002/ijc.28319>
 61. Adibi R, Moein S, Gheisari Y (2023) Zoledronic acid targets chemo-resistant polyploid giant cancer cells. *Sci Rep* 13:419. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-27090-1>
 62. White-Gilbertson S, Lu P, Esobi I, Echesabal-Chen J, Mulholland PJ, Gooz M, Ogretmen B, Stamatikos A, Voelkel-Johnson C (2022) Polyploid giant cancer cells are dependent on cholesterol for progeny formation through amitotic division. *Sci Rep* 12:8971. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-12705-4>
 63. Liu J, Niu N, Li X, Zhang X, Sood AK (2022) The life cycle of polyploid giant cancer cells and dormancy in cancer: Opportunities for novel therapeutic interventions. *Seminars in Cancer Biology* 81:132–144. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2021.10.005>
 64. Zhao S, Xing S, Wang L, Ouyang M, Liu S, Sun L, Yu H (2023) IL-1 β is involved in docetaxel chemoresistance by regulating the formation of polyploid giant cancer cells in non-small cell lung cancer. *Sci Rep* 13:12763. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-39880-2>
 65. Quinton RJ, DiDomizio A, Vittoria MA, Kotýnková K, Ticas CJ, Patel S, Koga Y, Vakhshoorzadeh J, Hermance N, Kuroda TS i inni (2020) Whole genome doubling confers unique genetic vulnerabilities on tumor cells. *Nature* 590(7846):492–497. doi:10.1038/s41586-020-03133-3
 66. Thura M, Ye Z, Al-Aidaros AQ, Xiong Q, Ong JY, Gupta A, Li J, Guo K, Ang KH, Zeng Q (2021) PRL3 induces polyploid giant cancer cells eliminated by PRL3-zumab to reduce tumor relapse. *Commun Biol* 4:923. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02449-8>
 67. Chee CE, Ooi M, Lee SC, Sundar R, Heong V, Yong WP, Ng CH, Wong A, Lim JSJ, Tan DSP i inni (2023) A Phase I, First-in-Human Study of PRL3-zumab in Advanced, Refractory Solid Tumors and Hematological Malignancies. *Targ Oncol* 18:391–402. <https://doi.org/10.1007/s11523-023-00962-w>
 68. Ghosh S, Choudhury D, Ghosh D, Mondal M, Singha D, Malakar P (2024) Characterization of polyploidy in cancer: Current status and future perspectives. *International Journal of Biological Macromolecules* 268:131706. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.131706>
 69. Jemaà M, Kifagi C, Serrano SS, Massoumi R (2020) Preferential Killing of Tetraploid Colon Cancer Cells by Targeting the Mitotic Kinase PLK1. *Cell Physiol Biochem* 54:303–320. <https://doi.org/10.33594/000000221>
 70. Zhou M, Ma Y, Chiang CC, Rock EC, Butler SC, Anne R, Yatsenko S, Gong Y, Chen YC (2023) Single-cell morphological and transcriptome analysis unveil inhibitors of polyploid giant breast cancer cells in vitro. *Commun Biol* 6:1301. <https://doi.org/10.1038/s42003-023-05674-5>
 71. Havas AP, Rodrigues KB, Bhakta A, Demirjian JA, Hahn S, Tran J, Scavello M, Tula-Sanchez AA, Zeng Y, Schmelz M i inni (2016) Belinostat and vincristine demonstrate mutually synergistic cytotoxicity associated with mitotic arrest and inhibition of polyploidy in a preclinical model of aggressive diffuse large B cell lymphoma. *Cancer Biology & Therapy* 17:1240–1252. <https://doi.org/10.1080/15384047.2016.1250046>
 72. Zhou W, Xu J, Gelston E, Wu X, Zou Z, Wang B, Zeng Y, Wang H, Liu A, Xu L i inni (2015) Inhibition of Bcl-xL overcomes polyploidy resistance and leads to apoptotic cell death in acute myeloid leukemia cells. *Oncotarget* 6:21557–21571. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.4306>
 73. Portelinha A, da Silva Ferreira M, Erazo T, Jiang M, Asgari Z, de Stanchina E, Younes A, Wendel HG (2023) Synthetic lethality of drug-induced polyploidy and BCL-2 inhibition in lymphoma. *Nat Commun* 14:1522. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-37216-2>
 74. Bowers RR, Andrade MF, Jones CM, White-Gilbertson S, Voelkel-Johnson C, Delaney JR (2022) Autophagy modulating therapeutics inhibit ovarian cancer colony generation by polyploid giant cancer cells (PGCCs). *BMC Cancer* 22:410. <https://doi.org/10.1186/s12885-022-09503-6>
 75. Zheng M, Tian S, Zhou X, Yan M, Zhou M, Yu Y, Zhang Y, Wang X, Li N, Ren L i inni (2024) MITF regulates the subcellular location of HIF1 α through SUMOylation to promote the invasion and metastasis of daughter cells derived from polyploid giant cancer cells. *Oncol Rep* 51:63. <https://doi.org/10.3892/or.2024.8722>
 76. Zhang X, Yao J, Li X, Niu N, Liu Y, Hajek RA, Peng G, Westin S, Sood AK, Liu J (2023) Targeting polyploid giant cancer cells potentiates a therapeutic response and overcomes resistance to PARP inhibitors in ovarian cancer. *Sci Adv* 9:eadf7195. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adf7195>
 77. White-Gilbertson S, Lu P, Jones CM, Chiodini S, Hurley D, Das A, Delaney JR, Norris JS, Voelkel-Johnson C (2020) Tamoxifen is a candidate first-in-class inhibitor of acid ceramidase that reduces amitotic division in polyploid giant cancer cells—Unrecognized players in tumorigenesis. *Cancer Medicine* 9:3142–3152. <https://doi.org/10.1002/cam4.2960>

Polyploidy as an outcome of anticancer therapies and a contributing cause of their lack of efficacy

Kinga Kołacz^{1,2}✉, Karolina Gronkowska^{1,2}, Magdalena Strachowska^{1,2},
Agnieszka Robaszkiewicz¹✉

¹Department of General Biophysics, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Lodz

²Bio-Med-Chem Doctoral School of the University of Lodz and Lodz Institutes of the Polish Academy of Sciences, University of Lodz

✉corresponding authors: kinga.kolacz@edu.uni.lodz.pl; agnieszka.robaszkiewicz@biol.uni.lodz.pl

Keywords: polyploid giant cancer cells, multidrug resistance, chemotherapy, endoreduplication, depolyploidization

ABSTRACT

In addition to innate and gained resistance, poliploidy of cancer cells is described as a mechanism responsible for lack of response or cancer relapses after initial patient recovery. Formation of these cells is induced by cyto- and genotoxic agents, which trigger endoreduplication, cytokinesis failure, cell fusion or cannibalism. These processes lead to amplification of DNA, cell cycle arrest and escape from death. Cancer reinitiation results from depolyploidization by neosis, amitotic and meiotic-like divisions. In this paper we review the known mechanisms, which drive cancer cell transition to poliploidy, major features of these cells and their role in cancer progression. We also depict the current approaches, which target metabolic and signaling pathways that are crucial for survival and functioning of polyploid cells. Literature data indicate that the combination of chemotherapy and radiotherapy with agents capable of inhibiting or eliminating polyploid cells could substantially improve the success rate and efficacy of anticancer therapies.

