

Estrogeny są hormonami, które u kobiet decydują głównie o rozwoju cech płciowych, choć pełnią również wiele innych istotnych funkcji. Produkowane są przez organizm prawie przez całe życie. Mogą być też „dostarczane” z zewnątrz – stosowane m.in. jako składowa niektórych doustnych środków antykoncepcyjnych oraz w estrogenowej terapii zastępczej po menopauzie. Dodatkowo wiele substancji chemicznych obecnych w środowisku posiada aktywność estrogenową (tzw. ksenoestrogeny, które mogą zaburzać funkcjonowanie organizmu i równowagę hormonalną).

Zarówno niedobór, jak i nadmierna ekspozycja na estrogeny nie są korzystne dla organizmu. Nadmierna ekspozycja na estrogeny jest związana ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na raka piersi i raka trzonu macicy. Wiadomo o tym zarówno dane epidemiologiczne jak i eksperymentalne. W związku z tym w 2002 roku estrogeny, a właściwie estrogen o najsilniejszym działaniu – 17- $\beta$ -estradiol (E2), zostały włączony na listę znanych czynników rakotwórczych.

Rak piersi jest najczęściej notowanym inwazyjnym rakiem u kobiet. Stanowi ponad 20% wszystkich raków, a rocznie diagnozuje się około miliona zachorowań na świecie. Wzrost raka piersi jest silnie zależny od estrogenu: około 80% raków piersi jest tzw. estrogeno-dodatnich, co oznacza, że w komórkach nowotworowych obecny jest receptor wiązający estrogen. Kompleks estrogen-receptor działa jak czynnik transkrypcyjny – wiąże się do DNA i wpływając na ekspresję genów stymuluje podziały komórek.

Liczba zachorowań na raka piersi stale rośnie, mimo to dokładny mechanizm kancerogenezy wywołanej przez estrogen wciąż nie jest znany. Zakłada się, że estrogen stymuluje podziały komórek zwiększając ryzyko nagromadzenia mutacji wynikających z błędów syntezy DNA. Druga hipoteza zakłada, że metabolity estrogenu wchodzi w kompleksy z DNA, co również może prowadzić do nagromadzenia mutacji, a w konsekwencji do rozwoju nowotworu. Nasze wstępne badania wykazały, że podanie estrogenu ludzkim komórkom nabłonkowym piersi, zarówno nienowotworowym, jak i nowotworowym, prowadzi do aktywacji białka HSF1, który jest czynnikiem transkrypcyjnym uruchamianym w czasie stresu komórkowego (takiego jak podwyższona temperatura). W konsekwencji produkowane są białka szoku cieplnego HSP, co zwiększa szanse komórki na przeżycie. HSF1 działa ochronnie również w komórkach nowotworowych, sprzyja ich podziałom i przekształceniu z komórki prawidłowej w nowotworową. W konsekwencji, wysoki poziom HSF1 jest związany ze zwiększonym ryzykiem zgonu pacjentów z estrogeno-zależnym rakiem piersi. W związku z tym zakładamy, że estrogen i HSF1 mogą współdziałać w promowaniu transformacji nowotworowej oraz podtrzymywaniu wzrostu guza.

Mimo, że zarówno HSF1 jak i estrogen są znane ze swojej roli wspierającej nowotworzenie, niewiele wiadomo na temat wzajemnych interakcji pomiędzy uruchamianymi przez nie szlakami sygnałowymi. Rodzi się więc pytanie, czy i jak HSF1 i estrogeny oddziałują ze sobą zarówno w komórkach prawidłowych, jak i w nowotworowych. Celem niniejszego projektu jest więc poznanie zależności od HSF1 mechanizmów towarzyszących transformacji nowotworowej indukowanej przez estrogen oraz wspierających wzrost komórek nowotworowych.

Zasadniczą częścią projektu koncentruje się na wyjaśnieniu, jakie szlaki sygnałowe aktywowane przez estrogen w komórkach nabłonkowych piersi zależą od HSF1. W tym celu porównamy zmiany zachodzące pod wpływem estrogenu w komórkach z normalnym poziomem HSF1 (HSF1+) oraz w komórkach pozbawionych HSF1 (HSF1-). Analizy wykonamy zarówno w komórkach nienowotworowych jak i w nowotworowych. Wiadomo, że traktowanie prawidłowych komórek (nienowotworowych) nabłonkowych piersi estrogenem prowadzi do rozwoju fenotypu nowotworowego. *In vitro* manifestuje się to zdolnością do wzrostu niezależnego od podłoża, utratą zdolności do tworzenia struktur o charakterze przewodów w hodowli przestrzennej w kolagenie, czy też wzrostem ruchliwości. Komórki te po transformacji są w stanie tworzyć guzy nowotworowe po wszczepieniu do organizmu (w przeciwieństwie do komórek prawidłowych). Badania na komórkach nienowotworowych o różnym poziomie HSF1, po krótkoterminowej oraz po długoterminowej ekspozycji na estrogen, dadzą odpowiedź na pytanie, jakie mechanizmy towarzyszące wczesnym i późnym etapom transformacji nowotworowej indukowanej przez estrogen i jaki jest wpływ HSF1 na ten proces.

Również wzrost komórek nowotworowych piersi silnie zależy od estrogenu. Badając zmiany w komórkach nowotworowych o różnym poziomie ekspresji HSF1 po traktowaniu estrogenem będziemy w stanie ocenić, jaki jest udział HSF1 w podtrzymaniu wzrostu komórek nowotworowych.

Ocena zmian zachodzących w komórkach pod wpływem estrogenu będzie możliwa dzięki zastosowaniu nowoczesnych metod genomicznych takich jak RNA-Seq, czyli sekwencjonowania całego transkryptomu. Metoda ta umożliwia ocenę globalnych zmian w ekspresji genów, ocenę zarówno ilości jak i jakości transkryptów. Dodatkowo planujemy badanie, dzięki któremu możliwe będzie określenie wszystkich miejsc wiązania receptora estrogenu do DNA (metodą ChIP-Seq). Uzyskamy informacje, jak HSF1 wpływa na wiązanie receptora do DNA, oraz które zmiany w ekspresji genów są bezpośrednio zależne od wiązania receptora.

Ważnym elementem projektu jest zbadanie odpowiedzi komórek na nowo odkryty inhibitor HSF1 (KRIBB11). Zbadamy, czy wpływ KRIBB11 na transkryptom jest identyczny/podobny do efektu wywołanego przez usunięcie HSF1 z komórki. Sprawdzimy również odpowiedź komórek nowotworowych na KRIBB11 w kombinacji z tamoksyfemem (wykorzystywanym w terapii raka piersi o dodatnim statusie receptora estrogenowego, ER+). Uzyskane wyniki mogą przyczynić się do opracowania strategii wspierających diagnostykę i leczenie nowotworów estrogeno-zależnych.