

POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU

Choroby nowotworowe to druga, po schorzeniach układu krążenia przyczyna zgonów w krajach rozwiniętych. Za większość zgonów wywołanych nowotworami odpowiadają przerzuty - wtórne ogniska choroby, powstające w wyniku przeniesienia się komórek oderwanych od guza. Jednym z mechanizmów warunkujących powstawanie przerzutów jest przejście nabłonkowo – mezenchymalne (EMT) - zespół zmian w morfologii i fizjologii komórek, które wiążą się z osłabieniem połączeń międzykomórkowych. W wyniku tego procesu tkanka nowotworowa staje się mniej lita, co prowadzi do oderwania pojedynczych komórek, a to z kolei zwiększa prawdopodobieństwo powstania przerzutu.

Nanotechnologia, czyli technologia obiektów o przynajmniej jednym rozmiarze mniejszym niż 100 nanometrów, to intensywnie rozwijająca się dziedzina nauki, której zdobycze coraz częściej spotykamy w codziennym życiu. Właściwości fizykochemiczne nanomateriałów istotnie różnią się od ich odpowiedników w skali makro. Duże nadzieje wiązane są z wykorzystaniem nanotechnologii w onkologii. Nanomateriały używane są jako środki kontrastowe, nośniki leków cytostatycznych, czy też środki terapeutyczne w terapii fotodynamicznej i fototermicznej. Jednak wraz z rozwojem nanotechnologii pojawiły się obawy o bezpieczeństwo stosowania nanomateriałów. Obecnie nie jesteśmy w stanie jednoznacznie stwierdzić, jak nanomateriały oddziałują na organizm człowieka. W ostatnich latach pojawiają się kolejne przesłanki świadczące o ich szeroko pojętej toksyczności, a także informacje o potencjalnym działaniu rakotwórczym.

Celem niniejszego projektu jest określenie wpływu wybranych nanomateriałów – nanocząstek srebra oraz wielościennych nanorurek węglowych na modulację EMT. Hipoteza badawcza zakłada, że wybrane nanomateriały mogą deregulować EMT zarówno indukując, jak i hamując poszczególne elementy tego procesu. Dotychczas w literaturze pojawiły się doniesienia, iż u myszy narażonych na działanie wielościennych nanorurek węglowych, dochodzi do indukcji EMT, co prowadzi do włóknienia płuc. Z drugiej strony, nanocząstki złota wykazały zdolność do hamowania EMT w różnych modelach komórkowych raka jajnika. Rola nanocząstek w EMT nie jest jasna, lecz biorąc pod uwagę fakt, iż jest to ważny mechanizm przerzutowania nowotworów, istotna wydaje się potrzeba jej określenia.

Badania będą prowadzone w warunkach *in vitro* z wykorzystaniem kultur komórkowych. Wybrana linia MDA-MB-436 pochodzi z komórek ludzkiego raka piersi i jest często stosowanym modelem badań nad przerzutowaniem. Po zoptymalizowaniu warunków hodowli, przy użyciu testów kolorymetrycznych przeprowadzone zostanie wstępne badanie toksyczności nanomateriałów. W celu sprawdzenia, czy wskazane w projekcie nanomateriały modulują EMT, w badanych komórkach zostanie określony poziom wybranych markerów tego procesu. W EMT komórki tracą charakter nabłonkowy, maleje zatem poziom substancji charakterystycznych dla tej morfologii. Wzrasta zaś poziom substancji, które szczytowe wartości osiągają w fenotypie mezenchymalnym. Poziom tych substancji zostanie zmierzony, dzięki określeniu poziomu ekspresji kodujących je genów, a także na poziomie białka, z kolei ich obecność w komórkach zostanie wizualnie wykazana barwieniem immunohistochemicznym. Zmiana ekspresji markerów EMT jest warunkowana działaniem specyficznych czynników transkrypcyjnych, które kontrolują proces replikacji genów. Dlatego też kolejnym etapem proponowanych w projekcie badań będzie sprawdzenie poziomu czynników transkrypcyjnych. Ponadto, metodą barwienia immunofluorescencyjnego określony zostanie poziom wybranych składników szlaków sygnałowych w przebiegu EMT. Szlaki sygnałowe, to grupa współpracujących ze sobą substancji, które działając razem kierują najważniejszymi funkcjami komórki (prolifracja, apoptoza itd.). Dzięki temu etapowi badań poznamy odpowiedź na pytanie, który ze szlaków sygnałowych w komórkach MDA-MB-436 zostaje uruchomiony, kiedy komórki poddane są działaniu nanomateriałów. Podczas EMT zmianie ulega morfologia komórek, dochodzi do reorganizacji w ich cytoszkielecie – „rusztowaniu”, będącym siecią włóknistych białek, dzięki którym organelle komórkowe nie pływają swobodnie w cytoplazmie. Najważniejszym białkiem cytoszkieletu komórek jest aktyna, której barwienie fluorescencyjne i obserwacja w mikroskopie konfokalnym pozwoli na określenie, czy w wyniku inkubacji komórek MDA-MB-436 z wybranymi nanomateriałami zmianie ulega szkielet komórek, co świadczyłoby o ich wpływie na proces EMT.

Ilość zgonów wywołanych chorobami nowotworowymi stale rośnie. Dlatego istotne wydaje się poszukiwanie nowych form, ale także wskazanie potencjalnych czynników, które sprzyjają ich rozwojowi. W nanoonkologii tkwi ogromny potencjał, jednak nie można ignorować doniesień o potencjalnej toksyczności nanomateriałów. Opisany w badanym projekcie zestaw eksperymentów ma charakter badań podstawowych, który istotnie wzbogaci wiedzę z dziedziny farmakologii, toksykologii i zdrowia publicznego. Proponowany projekt pozwoli na określenie udziału wybranych nanomateriałów w procesie przerzutowania nowotworów złośliwych. W zależności od otrzymanych rezultatów, może on otworzyć nowe możliwości terapeutyczne, ale także prowadzić do stworzenia odpowiednich regulacji na szczeblu międzynarodowym, których brakuje w obecnym ustawodawstwie.