

## 1. Popularnonaukowe streszczenie projektu

### Cel projektu, badania podstawowe, powody podjęcia danej tematyki badawczej

Innowacyjne badania mają na celu wyjaśnienie mechanizmów leżących u podstaw terapii antynowotworowej skierowanej przeciwko nowotworom tkanki mięśniowej przy jednoczesnym ochronnym wpływie parametrów terapii na zdrowe komórki mięśniowe otaczające nowotwór. Hipotezy, jakie zostaną sprawdzone w toku badań to czy podwyższone stężenia jonów wapnia za pomocą elektroporacji (EP) może wpływać dwojako na komórki, czyli **czy pulsowe pole elektryczne w obecności jonów wapnia będzie indukować śmierć komórkową mięśniakomięsaka prążkowanokomórkowego (RD), a jednocześnie okażą się bezpieczne lub stymulujące dla proliferacji normalnych komórek mięśni szkieletowych – C2C12.**

Proponowane w projekcie badania wykazują wysoki potencjał dla rozwoju nauki, ponieważ wapń i jego wpływ na procesy w komórkowe ciągle pozostawiają niewyjaśnione kwestie. Znany jest fakt proregeneracyjnego wpływu pola elektrycznego na odbudowę uszkodzonych komórek mięśniowych czy włókien nerwowych. Wiemy także, że elektroporacja jest wykorzystywana do selektywnego transportu substancji do wnętrza komórek m.in. w onkologii, jako elektrochemioterapia (ECT). Natomiast oba przeciwstawne procesy jak **proliferaacja i śmierć komórkowa mogą być indukowane poprzez modulacje poziomu wewnątrzkomórkowego wapnia.** Stworzenie terapii łączonej poprzez skojarzenie elektroporacji jonów wapnia i w odniesieniu do komórek mięśniowych zdaje się być **niezwykle ciekawym i racjonalizatorskim zagadnieniem.** Zasady działania mechanizmów, jakie uruchamia wysokie stężenie wapnia oraz pole elektryczne nie są poznane w kontekście prawidłowych i patologicznych komórek mięśniowych.

Proponowana w projekcie protokoły terapeutyczna zostanie zweryfikowane metodami oceny cytotoksyczności MTT i SRB. Metodą mikroskopii konfokalnej z zastosowaniem odpowiednich znaczników fluorescencyjnych zostanie zobrazowany wpływ jonów wapnia i EP na cytoszkielet komórkowy (aktynę i tubulinę) oraz błonę komórkową, która jest najbardziej narażona na działanie pulsowego pola elektrycznego. Dodatkowo marker jonów wapnia pozwoli na zbadanie różnic w poziomie jonów wapnia przed i po zastosowanej interwencji. Zostanie również zobrazowana morfologia organelli komórkowych przy pomocy transmisyjnego mikroskopu elektronowego (TEM). Szczególna uwaga zostanie poświęcona błonie komórkowej oraz tzw. „wymyennikom” jonów wapnia, które się w niej znajdują, a na które terapia może mieć największy wpływ. W związku z tym sprawdzony zostanie poziom ekspresji białek budujących kanały i pompy wapniowe odpowiadających za homeostazę wapniową oraz stosunek izoform ciężkich łańcuchów miozyny (MHC) odpowiedzialnych za procesy naprawcze w mięśniach. Założeniem projektu jest opracowanie takich protokołów, które umożliwią **stymulację komórek prawidłowych z jednoczesną degradacją komórek nowotworowych.** Dlatego zostaną przeprowadzone badania w kierunku oceny rodzaju śmierci komórkowej metodami immunocytochemicznym, western blot i metodami mikroskopii fluorescencyjnej. Zoptymalizowane protokoły *in vitro* umożliwią realizację drugiej części projektu na podskórnie wszczepionym mysim modelu guza we **współpracy z wiodącym w dziedzinie elektrochemioterapii ośrodkiem w Danii (Uniwersytecki Szpital Herlev).**

Scharakteryzowanie oddziaływań zewnętrznego pulsowego pola elektrycznego w obecności z jonami wapnia **poszerzy obecny stan wiedzy** w zakresie oddziaływań komórkowych z jonami wapnia a także mechanizmów elektroporacji, które nie są do końca wyjaśnione. Przekazywanie sygnałów wapniowych i ich dualizm objawiający się indukowaniem aktywności fizjologicznej i śmierci jest niezwykle interesujący w aspekcie bezpiecznych terapii przeciwnowotworowych. Istnieje niewiele doniesień dotyczących działania wapnia i EP na komórki fibrosarkomy. Uzyskane wyniki pozwolą zrozumieć i wyjaśnić różnice w działaniu metody na zdrowej i nowotworowej komórce oraz będą stanowić podstawę do dalszych badań i opracowania protokołów do badań *in vivo*. Otrzymane w ramach projektu wyniki przyczynią się do opracowania protokołów **małoinwazyjnej metody a jednocześnie nieobciążającej organizm tak jak chemioterapia w przypadku trudnego w leczeniu u dzieci mięśniakomięsaka prążkowanokomórkowego.**