

Według baz danych WHO rak piersi jest najpowszechniejszym nowotworem złośliwym występującym w grupie kobiet – w 2012 roku odnotowano ponad 1,5 mln nowych przypadków oraz ponad 0,5 mln zgonów (GLOBOCAN 2012). Pomimo coraz wyższej dostępności badań przesiewowych nadal liczne przypadki wykrywane są w stadium zaawansowanym, charakteryzującym się niepomyślnym rokowaniem. Większość przypadków śmiertelnych spowodowana jest późnym rozpoznaniem choroby, związanym z obecnością przerzutów w miejscach odległych.

Przerzutowanie jest wieloetapowym i złożonym procesem będącym wynikiem licznych interakcji pomiędzy komórkami nowotworowymi oraz komórkami prawidłowymi obecnymi w mikrośrodowisku guza, tzw. komórkami zrębu guza. W nacieku leukocytnym dominującą populację stanowią makrofagi, zwane jako makrofagi związane z nowotworami (TAMs). Plastyczność ich fenotypu determinuje ich pro- lub antynowotworowe właściwości. W zaawansowanym stadium raka piersi bardzo często stwierdza się polaryzację ich fenotypu w kierunku alternatywnie aktywowanych makrofagów M2, których obecność związana jest z szybszą progresją nowotworu, opornością na leczenie i uważana jest za niekorzystny czynnik rokowniczy.

Powszechnie wiadome jest, że właściwy poziom witaminy D jest kluczowy dla utrzymania homeostazy organizmu. Liczne badania wskazują, że jej niedobór może być czynnikiem prognostycznym w raku piersi, zaś jej suplementację zaleca się w wielu schematach terapeutycznych w celu złagodzenia objawów kostnych. Pomimo tego brakuje badań nad bezpieczeństwem stosowania witaminy D w zaawansowanym stadium inwazyjnego raka piersi, zwłaszcza w odniesieniu do jej immunomodulujących właściwości.

Celem naszych badań jest sprawdzenie czy witamina D może wpływać na inwazyjność i przerzutowość komórek nowotworowych poprzez modyfikację właściwości makrofagów, związanych z polaryzacją ich fenotypu. Proponowany projekt oparty jest na badaniach *in vitro* wykorzystujących techniki ko-hodowli komórkowych oraz hodowli 3D. W tym celu wykorzystamy model mysich makrofagów stymulowanych cytokinami w celu ich aktywacji do fenotypu M1 bądź M2 oraz dwie linie mysiego raka gruczołu sutkowego różniące się zarówno inwazyjnością jak i wrażliwością na witaminę D. W pierwszym etapie ocenimy rolę witaminy D oraz komórek nowotworowych w polaryzacji fenotypu makrofagów poprzez analizę ekspresji genów i białek charakterystycznych dla ich poszczególnych klas. Następnie określimy wpływ różnych subpopulacji makrofagów na proliferację komórek prawidłowych/nowotworowych oraz ich zdolność do adhezji, migracji, inwazji i tworzenia sferoidów. Zaplanowane badania obejmą również ocenę wpływu czynników wydzielanych przez makrofagi M1 lub M2 na właściwości komórek nowotworowych poprzez analizę markerów związanych z EMT (przejście epitelialno-mezenchymalne) oraz genów i białek istotnych dla inwazji i przerzutowania. Aby określić wpływ witaminy D na powyższe procesy komórki nowotworowe oraz makrofagi wykorzystywane w ko-hodowlach będą preinkubowane (lub nie) w obecności jej biologicznie aktywnej formy, tj. kalcytriolu.

Wyniki badań objętych niniejszym projektem przyczynią się do pełniejszego i lepszego zrozumienia molekularnego oraz komórkowego podłoża rozwoju i progresji raka piersi, co wydaje się być niezbędne do stworzenie nowych, skuteczniejszych strategii terapeutycznych. Co więcej, staną się one również przyczynkiem do rozważań na temat bezpieczeństwa stosowania witaminy D w kontekście jej bezpośredniego wpływu na właściwości obecnych w środowisku guza makrofagów.