

Cel prowadzonych badań/hipoteza badawcza

Celem projektu jest poznanie roli różnych produktów glikacji w modulowaniu mikrośrodowiska nowotworowego

Glikacja to nieenzymatyczny proces, w wyniku którego powstaje heterogenna grupa związków (AGE) na skutek reakcji pomiędzy cukrami i białkami. Niektóre struktury zostały opisane, ale większość struktur i ich właściwości biologiczne pozostają nieznane. Nasz zespół zidentyfikował niedawno unikalny produkt glikacji (nazwany MAGE), o odmiennej strukturze od dotąd opisywanych w literaturze AGE. Otrzymane anty-MAGE przeciwciała nie reagowały z konwencjonalnymi AGEs. Wstępne badania pokazały, że przeciwciała anty-MAGE wykrywały produkty obecne w niektórych tkankach nowotworowych od pacjentów. Natomiast makrofagi hodowane w medium zawierającym różne AGE, w tym MAGE produkowały odmienny profil cytokin. Dlatego postawiliśmy hipotezę, że różne AGEs wykazują odmienne właściwości i mogą modulować aktywność komórek mikrośrodowiska nowotworowego. Planujemy określenie udziału różnych AGEs w rozwój nowotworu przez zbadanie efektu komórkowego na skutek interakcji AGE/RAGE oraz aktywacji układu immunologicznego.

Zastosowana metoda badawcza/metodyka

Cel 1. Identyfikacja wybranych AGEs w mikrośrodowisku nowotworowym

Zadanie 1. Analiza tkanek nowotworowych na obecność nowych produktów glikacji i kinurelinacji. Tkanki pochodzące od pacjentów z nowotworami będą analizowane metodą immunohistochemicznego barwienia oraz spektrometrii mas MALDI-TOF.

Zadanie 2. Porównanie obecności MAGE w prawidłowych i nowotworowych komórkach endometrium i piersi oraz krwi pacjentów. Hodowane in vitro komórki izolowane z nowotworów endometrium i tkanek kontrolnych będą analizowane za pomocą MALDI-TOF w celu identyfikacji MAGE i białek zmodyfikowanych przez kinureniny.

Cel 2. Badanie pro-nowotworowego wpływu różnych klas AGEs na komórki mikrośrodowiska nowotworowego

Zadanie 3. Określenie produkcji cytokin przez makrofagi pod wpływem działania wybranych klas AGEs. Komórki THP1 będą hodowane w obecności różnych AGE, a panel wydzielanych cytokin zostanie zbadany metoda multiplex.

Zadanie 4. Określenie zmiany ekspresji receptora RAGE na powierzchni makrofagów oraz hodowanych in vitro komórek nowotworowych pod wpływem działania wybranych klas AGEs. Linie MDA-MB-231 i SK-BR3 będą traktowane różnymi AGEs i testowane w kierunku ekspresji receptora RAGE metoda FACS, WB i QPCR.

Cel 3. Poznanie roli wybranych AGEs w modulacji aktywności szlaku kinureninowego w komórkach nowotworowych

Zadanie 5. Określenie aktywacji szlaku kinureninowego w komórkach nowotworowych pod wpływem wybranych klas AGEs. Linie nowotworowe hodowane w obecności różnych AGEs zostaną przetestowane pod kątem ekspresjiIDO (QPCR, WB) oraz aktywności enzymu i akumulacji kinurenin w medium hodowlanym (HPLC).

Zadanie 6. Wpływ wydzielanych przez makrofagi mediatorów na metabolizm szlaku kinureninowego w komórkach nowotworowych. Sprawdzimy aktywację szlaku kinureninowego w liniach nowotworowych MDA-MB-231 i SK-BR3 poddanych działaniu medium z komórek THP1 traktowanych różnymi AGEs. Poziom enzymuIDO sprawdzimy zapomoca WB i QPCR, a aktywność i produkowne kinureniny za pomocą HPLC.

Wpływ spodziewanych rezultatów na rozwój nauki

Uzyskane wyniki pokażą jak różnorodne AGEs wpływają na rozwój nowotworu. Sprawdzimy gromadzenie się nowych AGEs w tkankach nowotworowych. Dostarczymy nowych informacji na temat roli AGEs i szlaku kinureninowego w modulowania mikrośrodowiska nowotworowego.