

Metformina stanowi aktualnie lek pierwszego rzutu w leczeniu cukrzycy typu II. Przypuszczenie o przeciwnowotworowym działaniu metforminy zainicjowały badania farmako-epidemiologiczne w 2005 roku wykazujące obniżone ryzyko choroby nowotworowej u pacjentów z cukrzycą typu II, przyjmujących metforminę. Aktualnie prowadzone są liczne badania doświadczalne i kliniczne w tym zakresie. Niemniej jednak molekularny mechanizm działania przeciwnowotworowego metforminy nie jest nadal znany.

Jednym z efektów działania metforminy jest aktywacja AMP kinazy (AMPK). Kiedy stosunek AMP/ATP wzrasta AMPK ulega aktywacji w celu przywrócenia prawidłowego poziomu ATP oraz hamuje wydatki energetyczne komórki związane między innymi z proliferacją komórek. AMPK podlega zatem regulacji szczególnie w warunkach niedoboru energetycznego (np. podczas głodzenia), a także hipoksji (podczas zmniejszonej ilości tlenu). Z jednej strony, AMPK hamuje procesy anaboliczne, z drugiej pobudza katabolizm. Jednym z substratów energetycznych w warunkach niedoboru glukozy jest prolina, pochodząca z produktów degradacji białek, głównie kolagenu. Prolina ulega degradacji w mitochondriach jedynie przez dehydrogenazę prolinową/oksydazę prolinową (PRODH/POX). Szczególnie interesująca w tym kontekście jest obserwacja indukcji PRODH/POX przez AMPK. Głównym procesem utylizacji proliny jest biosynteza kolagenu, która może ograniczać dostępność proliny do jej degradacji w mitochondriach. Z drugiej strony, aktywność prolidazy (enzym uwalniający prolinę z imidodipeptydów) jest ważnym regulatorem stężenia wolnej proliny w cytoplazmie.

PRODH/POX jest mitochondrialnym enzymem katalizującym konwersję proliny do kwasu pirolidyno-5-karboksyłowego (P5C). Podczas konwersji proliny do P5C, elektrony są transportowane do łańcucha oddechowego produkując ATP lub generują ROS. W pierwszym przypadku, aktywacja PRODH/POX prowadzi do produkcji ATP dostarczając energii i służąc przeżyciu, w drugim przypadku ROS indukuje apoptozę. Jakkolwiek mechanizm przełączania funkcji PRODH/POX z hamującej na pobudzającą wzrost komórek nowotworowych nie jest znany to jednak wydaje się prawdopodobne, że w tym procesie ważną rolę może odgrywać dostępność proliny do tego procesu. Powyższe argumenty świadczą o potencjalnie ważnej roli proliny w mechanizmie regulacji apoptozy/autofagii.

Powiązanie AMPK, PRODH/POX i proliny z procesem apoptozy/autofagii w komórkach nowotworowych oraz stymulujące działanie metforminy na AMPK pozwala na przedstawienie hipotezy o mechanizmie udziału metforminy w apoptozie/autofagii. Kluczowe znaczenie w tym procesie może odgrywać wewnątrzkomórkowe stężenie proliny i jej konwersja do P5C. Z tego względu metabolizm proliny może odgrywać ważną rolę w regulacji apoptozy/autofagii. Może on być regulowany poprzez niektóre czynniki wzrostowe i transkrypcyjne np. HIF-1 α , NF- κ B.

Celem projektu badawczego jest identyfikacja mechanizmu przeciwnowotworowego działania metforminy jako induktora apoptozy w komórkach raka piersi poprzez analizę ekspresji niektórych receptorów, czynników transkrypcyjnych, białek sygnałowych, AMPK, PRODH/POX, oraz markerów apoptozy i autofagii w warunkach regulowanej dostępności proliny.

W celu realizacji projektu zostaną uzyskane klony komórek linii raka piersia MCF-7 z modyfikowaną ekspresją PRODH/POX i prolidazy. Następnie zostanie oceniony wpływ metforminy na niektóre procesy metaboliczne. Planowana jest ocena wpływu metforminy na proliferację komórek, biosyntezę kolagenu, ekspresję niektórych receptorów, czynników wzrostowych, białek szlaków sygnałowych oraz czynników transkrypcyjnych przy użyciu techniki RT-qPCR oraz Western immunoblot, immunocytochemicznych z wykorzystaniem mikroskopii konfokalnej oraz cytometrii przepływowej. W końcowym etapie badań zostanie wykonana analiza metabolomiczna oceniająca wpływ metforminy na profil aminokwasowy komórek MCF-7 z modyfikowaną ekspresją PRODH/POX.

Efekty biologiczne stosowania metforminy na komórki raka piersi ocenione zostaną w odniesieniu do potencjalnego wykorzystania i opracowania nowego molekularnego celu farmakoterapii raka. Poznanie mechanizmu przeciwnowotworowego działania metforminy pozwoli na doskonalenie farmakoterapii choroby nowotworowej.