

Estrogeny, zwłaszcza estradiol stanowią ważny regulator proliferacji, przeżycia i różnicowania komórek w różnych tkankach. Jednym z metabolitów estradiolu jest 2-metoksyestradiol (MOE), który hamuje proliferację komórek w różnych typach nowotworów. Ważną funkcją estrogenów jest regulacja metabolizmu tkanki łącznej. Estradiol pobudza obrót kolagenu poprzez nasilenie biosyntezy i degradacji tego białka. Wskaźnikiem tego procesu jest wzrost aktywności prolidazy (enzymu uwalniającego prolinę z połączeń imidopeptydowych do resyntezy kolagenu).

PRODH/POX jest mitochondrialnym enzymem katalizującym konwersję proliny do kwasu pirolidyno-5-karboksylowego (P5C). Podczas konwersji proliny do P5C, elektrony są transportowane do łańcucha oddechowego produkując ATP lub generują reaktywne formy tlenu (ROS). W pierwszym przypadku, aktywacja PRODH/POX prowadzi do produkcji ATP dostarczając energii i służąc przeżyciu, w drugim przypadku ROS indukują apoptozę. Mechanizm przełączania funkcji PRODH/POX z hamującej na pobudzającą wzrost komórek nowotworowych nie jest znany. Prawdopodobnie dostępność proliny do tego procesu może odgrywać ważną rolę w mechanizmie regulacji apoptozy/autofagii.

Powiązanie estrogenów, PRODH/POX i metabolizmu proliny z procesem apoptozy/autofagii w komórkach nowotworowych pozwala na przedstawienie hipotezy o roli estradiolu i jego metabolitu, MOE, w regulacji molekularnego mechanizmu PRODH/POX-zależnej apoptozy/autofagii. Kluczowe znaczenie w tym procesie może odgrywać wzrost stężenia proliny w cytoplazmie przyczyniając się do indukcji apoptozy w komórkach nowotworowych poprzez aktywację kaskady ścieżek sygnałowych obejmujących PRODH/POX oraz niektóre czynniki transkrypcyjne.

Celem projektu badawczego jest zweryfikowanie hipotezy zakładającej, że aktywacja receptora estrogenowego pobudza metabolizm proliny (wzrost biosyntezy kolagenu i utylizacji proliny w tym procesie) prowadząc do obniżenia ilości wolnej proliny (jako substratu do PRODH/POX zależnej apoptozy) oraz kreuje pro-przeżyciowy fenotyp komórki raka piersi MCF-7. Natomiast metabolit estradiolu, MOE, poprzez upośledzenie biosyntezy kolagenu prowadzi do wzrostu stężenia wewnątrzkomórkowej proliny indukując PRODH/POX-zależną apoptozę. Upośledzenie funkcji receptora estrogenowego poprzez MOE powinno zatem przyczynić się do indukcji pro-apoptotycznego fenotypu komórki.

W celu realizacji projektu zostaną uzyskane klony komórek linii raka piersi MCF-7 z modyfikowaną ekspresją PRODH/POX. Następnie zostanie oceniony wpływ estradiolu i jego metabolitu (MOE) na niektóre procesy metaboliczne tych komórek. Planowana jest ocena wpływu metforminy na proliferację komórek, biosyntezę kolagenu, aktywność prolidazy, ekspresję PRODH/POX, niektórych czynników transkrypcyjnych, receptorów czynników wzrostowych oraz białek szlaków sygnałowych przy użyciu techniki RT-qPCR, Western immunoblot oraz immunocytochemii przy wykorzystaniu mikroskopii konfokalnej oraz cytometrii przepływowej. Oceniony zostanie również wpływ estradiolu i MOE na cykl komórkowy. W końcowym etapie badań zostanie wykonana analiza metabolomiczna aminokwasów przy użyciu wysokosprawnej chromatografii cieczowej lub chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrem mas (LC-QTOF-MS/GC-MS), oceniająca wpływ estradiolu i MOE na profil aminokwasowy komórek MCF-7 z modyfikowaną ekspresją PRODH/POX.

Projekt ten ma na celu wyjaśnienie wpływu estradiolu i jego metabolitu (MOE) na poziomie molekularnym na PRODH/POX-zależną apoptozę lub autofagię w eksperymentalnym modelu raka piersi. Efekty biologiczne stosowania estrogenów i MOE na komórki raka piersi ocenione zostaną w odniesieniu do potencjalnego wykorzystania i opracowania nowego molekularnego celu farmakoterapii raka. Poznanie molekularnego wpływu estradiolu i MOE na PRODH/POX-zależną apoptozę/autofagię pozwoli na doskonalenie farmakoterapii choroby nowotworowej. Udokumentowanymi wynikami projektu badawczego będą publikacje naukowe w czasopismach o wysokim współczynniku wpływu oraz referaty wygłaszane na krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych.