

Mechanizm uwrażliwiającego działania niskich dawek frakcyjnych (LDFRT) na paklitaksel i karboplatinę w komórkach raka narządów głowy i szyi. Rola transportu białka ATM z cytoplazmy do jądra.

Podstawą konwencjonalnych schematów radioterapii jest dawka frakcyjna 2 Gy podawana raz dziennie przez 5 dni w tygodniu do dawki całkowitej 40-70 Gy. Jeszcze do niedawna dawki <1 Gy nie były stosowane w radioterapii nowotworów złośliwych ponieważ uważano je za nieefektywne. Kliniczne znaczenie niskich dawek zmieniło się, gdy odkryto zjawisko nadwrażliwości na niskie ($<0,5$ Gy) dawki promieniowania jonizującego (HRS - *low dose hyperradiosensitivity*). Zjawisko HRS oznacza większą śmiertelność komórek po niskich dawkach promieniowania w porównaniu do tej przewidywanej na podstawie modelu liniowo-kwadratowego stosowanego w radioterapii. Uważa się, że w porównaniu do konwencjonalnych dawek promieniowania (2 Gy), niskie dawki są bardziej efektywne (w przeliczeniu na jednostkę dawki) ponieważ nie aktywują komórkowych mechanizmów naprawy, w efekcie czego wszystkie uszkodzone komórki giną. Od momentu odkrycia efektu HRS toczy się debata nad jego klinicznym wykorzystaniem w radioterapii chorych na nowotwory. Jedną z możliwych strategii jest zastosowanie radioterapii frakcjonowanej niskimi ($\leq 0,5$ Gy) dawkami (LDFRT - *low-dose fractionated radiation*) skojarzonej z indukcyjną chemioterapią w grupach chorych na zaawansowane nowotwory złośliwe. Podstawą tej strategii były badania, w których wykazano, że niskie dawki frakcyjne (4 x 0,5 Gy) potęgują cytotoksyczny efekt chemioterapeutyków (taksanów i cisplatyny) efektywniej niż pojedyncza dawka 2 Gy. Do chwili obecnej przeprowadzono osiem badań klinicznych II fazy w grupach chorych na nowotwory terenu głowy i szyi, raka piersi, płuca i szyjki macicy oraz nowotwory mózgu. Wyniki tych badań zachęcają do szerszego zastosowania niskich dawek w praktyce klinicznej. W tym celu jednak konieczne jest dokładne poznanie molekularnych mechanizmów wpływu niskich dawek na cytotoksyczny efekt chemioterapeutyków. Do chwili obecnej tylko jeden ośrodek (w USA) zajmował się mechanizmem działania LDFRT.

Celem proponowanego projektu jest zweryfikowanie hipotezy, że w przeciwieństwie do dawki pojedynczej 2 Gy, niskie dawki frakcyjne (4x0.5 Gy) nie aktywują białka ATM (w konsekwencji naprawa uszkodzeń DNA nie zachodzi) oraz nie aktywują ścieżki przeżycia (w konsekwencji ginie więcej komórek w drodze apoptozy). W odniesieniu do białka ATM, w ostatnim czasie zaproponowano nową, bardzo ciekawą teorię, wg której odpowiedź na niskie i wysokie dawki promieniowania jonizującego zależy od transportu białka ATM (odpowiedzialnego za rozpoznanie i naprawę uszkodzeń DNA) z cytoplazmy do jądra (RIANS - *radiation-induced ATM nucleoshuttling*). W związku z tym, celem proponowanego projektu jest także określenie (po raz pierwszy) jaką rolę w mechanizmie chemiowrażliwiającego działania niskich dawek promieniowania odgrywa transport białka pATM z cytoplazmy do jądra.

Badania będą prowadzone na liniach komórkowych raka narządów głowy i szyi. Mechanizm działania niskich dawek frakcyjnych (4 x 0,5 Gy) *versus* dawki pojedynczej (2 Gy) w skojarzeniu z paklitakselem lub karboplatiną zostanie określony na podstawie: analizy przeżycia komórek (testem klonogennym), kinetyki rozpoznania i naprawy uszkodzeń DNA (testem ognisk pATM i γ H2AX), indukcji apoptozy (testem TUNEL) oraz ekspresji białek związanych ze ścieżką apoptozy (metodą western blot).

W wyniku projektu w znaczącym stopniu zostanie uzupełniona i rozszerzona wiedza na temat molekularnego mechanizmu odpowiedzialnego za uwrażliwiający efekt niskich dawek frakcyjnych (LDFRT) na chemioterapeutyki. Wiedza ta powinna przyczynić się do szerszego zastosowania niskich dawek frakcyjnych w terapii nowotworów złośliwych.