

STRESZCZENIE

Niniejsza rozprawa doktorska dostarcza dowodów ważnej roli estrogenów w mechanizmie apoptozy zależnej od PRODH/POX w komórkach raka piersi.

PRODH/POX, enzym mitochondrialny, katalizuje konwersję proliny do kwasu Δ^1 -pirolino-5-karboksyłowego (P5C). Podczas tego procesu uwolnione elektrony są transportowane do łańcucha oddechowego, wytwarzając ATP lub są bezpośrednio przyjmowane przez tlen, generując reaktywne formy tlenu (ROS). W pierwszym przypadku aktywacja PRODH/POX prowadzi do produkcji ATP kreując warunki pro-przeżyciowe, w drugim ROS indukują apoptozę. Jakkolwiek mechanizm przełączania funkcji apoptozy/przeżycia nie jest dobrze poznany, postuluje się, że obydwa procesy (apoptoza lub przeżycie) wywołane przez PRODH/POX są zależne od kontekstu metabolicznego komórki, a dostępność proliny do PRODH/POX-zależnych funkcji może odgrywać kluczową rolę.

Wysunięto hipotezę, że estrogeny mogą odgrywać ważną rolę w mechanizmie apoptozy/przeżycia zależnej od PRODH/POX jako stymulatory biosyntezy kolagenu, który to proces utylizuje duże ilości wolnej proliny, ograniczając dostępność substratu (proliny) do PRODH/POX zależnych funkcji. Estrogeny są bowiem stymulatorami biosyntezy kolagenu. Procesowi temu towarzyszy degradacja kolagenu, która w końcowym etapie katalizowana jest przez cytoplazmatyczną imidodipeptydazę, prolidazę, uwalniając prolinę.

Do zbadania powyższej hipotezy wykorzystano cztery modele komórek raka piersi: ER-pozytywną linię komórkową raka piersi MCF-7 (z ekspresją ER α i ER β) oraz ER-negatywną linię komórkową raka piersi MDA-MB-231 (z ekspresją tylko ER β) a także odpowiednie linie komórkowe z wyciszoną ekspresją PRODH/POX uzyskane metodą shRNA. Aby pobudzić ekspresję PRODH/POX, zastosowano troglitazon (TGZ), ligand receptora aktywowanego przez proliferatory peroksosomów (PPAR- γ), o znanej zdolności do stymulacji ekspresji PRODH/POX.

Stwierdzono, że estradiol stymuluje biosyntezę kolagenu utylizując wolną prolinę i ograniczając jej dostępność do apoptozy zależnej od PRODH/POX. Co ciekawe, TGZ okazał się nie tylko silnym aktywatorem PRODH/POX, ale także inhibitorem biosyntezy kolagenu. Przedstawiono dowody, że apoptoza (aktywna kaspaza-3, -9 i PARP) zachodziła w komórkach MDA-MB-231 typu dzikiego, hodowanych w pożywce bez estradiolu lub w komórkach hodowanych w pożywce z estradiolem, ale pozbawionych ER β (przez Degradacja zależną od ICI), podczas gdy w komórkach z wyciszonym PRODH/POX apoptozy nie stwierdzono.

Apoptoza w tych komórkach wywołana przez PRODH/POX była zależna od reaktywnych form tlenu (ROS). Efektu tego nie stwierdzono również w komórkach MCF-7 niezależnie od nieobecności lub obecności estradiolu oraz w komórkach MDA-MB-231 hodowanych w pożywce z estradiolem. Mechanizm PRODH/POX-zależnej apoptozy jest uzależniony od intensywności biosyntezy kolagenu, najefektywniejszego procesu utylizacji proliny, który jest regulowany przez estrogeny.

Przedstawione wyniki badań sugerują, że apoptoza indukowana przez TGZ w komórkach MDA-MB-231 hodowanych w pożywce bez estradiolu lub pozbawionych ER β zachodzi poprzez PRODH/POX, a proces ten jest nasilony przez wzrost dostępności proliny do PRODH/POX za pośrednictwem TGZ silnie hamującym biosyntezę kolagenu. Sugeruje to, że skojarzone działanie agonisty PPAR- γ i anty-estrogenu może stanowić przedmiot dalszych badań nad eksperymentalną terapią ER-negatywnego raka piersi.