Streszczenie

W skali świata, nowotwór piersi uznawany jest za najbardziej rozpowszechniony typ nowotworu wśród kobiet. Aż 34% kobiet żyjących z nowotworem choruje właśnie na raka piersi. W Polsce w 2013 roku zdiagnozowano 17142nowych przypadków zachorowania na raka piersi i było ich o ponad 6000 więcej niż w 1999 roku. Ponadto, często ze względu na późną diagnozę, nowotwór piersi jest najczęstszą przyczyną zgonu kobiet. W związku z tym poszukuje się nowych markerów diagnostycznych umożliwiających szybszą diagnostykę. Poszukuje się także molekularnych markerów mogących mieć wpływ zarówno na funkcjonowanie pojedynczej komórki jak i całego organizmu co w efekcie może doprowadzić do rozwoju choroby nowotworowej lub zmniejszyć efektywność chemioterapii. W związku z tym celem niniejszej pracy była ocena przydatności identyfikacji polimorfizmów genów ABCB1, LEPi LEPR jako potencjalnych markerów diagnostycznych i predykcyjnych w raku piersi u kobiet z województwa wielkopolskiego. W tym celu określono genotyp poszczególnych polimorfizmów u kobiet zdrowych, które stanowiły kontrolę oraz kobiet ze zdiagnozowanym rakiem piersi. Badaniami objęto 209 kobiet w wieku 59,6+/-11 lat u których zdiagnozowano raka piersi oraz 202 zdrowych kobiet w wieku 57,8+/-8,2 lata, które były dawczyniami krwi Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Poznaniu. U kobiet, które zostały zakwalifikowane do badań oznaczono genotyp pod względem polimorfizmów genów ABCB1(3435C/T; 2677G/A,T), LEP(2548G/A) oraz LEPR(223Gln/Arg; 109Lys/Arg). Uzyskane wyniki skorelowano z masą ciała kobiet zdrowych i kobiet chorujących na raka piersi oraz częstością występowania poszczególnych alleli w badanych grupach co umożliwiło ocenę udziału tych polimorfizmów w zachorowaniu na raka piersi. Oceniono także zależność pomiędzy badanymi polimorfizmami a ekspresją, na powierzchni komórek raka piersi, receptorów estrogenowych, progesteronowych i naskórkowego czynnika wzrostu. Ponadto określono udział badanych polimorfizmów w zaawansowaniu raka piersi wyrażonym wielkością guza pierwotnego, obecnością przerzutów do węzłów chłonnych oraz stopniem histologicznego zróżnicowania nowotworu. Postanowiono także ocenić w warunkach in vitro zależność pomiędzy polimorfizmami genu ABCB1a poziomem i aktywnością białka ABCB1 i w konsekwencji odpowiedzią komórek raka piersi linii MCF7 i MDA-MB-231 na działanie doksorubicyna -substratu ABCB1.Na podstawie przeprowadzonych analiz stwierdzono, że otyłość jest istotnym czynnikiem ryzyka zachorowania na raka piersi kobiet z województwa wielkopolskiego. Jednakże nie wykazano udziału badanych polimorfizmów w zwiększaniu ryzyka zachorowaniana raka piersi oraz ich wpływu na stopień zaawansowania choroby nowotworowej. Możliwe jest, że polimorfizmy LEP(2548G/A) oraz LEPR(223 Gln/Arg) mogą pozytywnie korelować z ekspresją receptorów progesteronowych oraz naskórkowego czynnika wzrostu na powierzchni komórek raka piersi. Jednakże zależność ta wymaga pogłębionej analizy z uwzględnieniem większej liczby pacjentów. W kolejnym etapie badań podjęto próbę oceny udziału polimorfizmów ABCB1w regulacji ekspresji genu i w konsekwencji poziomu białka ABCB1. Postanowiono także ocenić udział tych polimorfizmów w regulacji aktywności białka. Co ciekawe, wykazano, że choć do badań wykorzystano modelowe linie raka piersi, zdefiniowane i dobrze opisane, okazało się, że różnią się one genotypem względem danych literaturowych. Linie komórkowe poddane analizie w ramach realizacji niniejszej pracy oceniono jako podwójną homozygotę dziką 3435CC, 2677GG (MCF7) oraz homozygotę polimorficzną 3435TT i heterozygotę 2677G/T (MDA-MB-231), co w efekcie może wpływać na poziom oraz aktywność białka ABCB1. Homozygotyczne komórki linii MCF7 charakteryzują się znacznie większym, względem MDA-MB-231, poziomem oraz aktywnością białka ABCB1. Postuluje się zatem, że obecność takiego genotypu może z jednej strony zabezpieczać organizm przed kumulacją szkodliwych ksenobiotyków i zmniejszać ryzyko zachorowania na raka piersi a z drugiej strony zmniejszać efektywność terapii przeciwnowotworowej. Założenie to potwierdzają wyniki uzyskane w trakcie realizacji niniejszej pracy. Wykazano zależność pomiędzy polimorfizmem genu ABCB1, poziomem białka ABCB1 i jego wysoką aktywnością, a mniejszą wrażliwością komórek linii MCF7 na działanie doksorubicyny.

Wyniki te mogą posłużyć jako wstęp do pogłębionej analizy in vitro oraz oceny udziału polimorfizmow w biodystrybucji ksenobiotyków w organizmie ludzki oraz w odpowiedzi na terapię przeciwnowotworową