

Streszczenie

Pomimo rosnącego postępu w medycynie, choroby nowotworowe nadal stanowią jedną z głównych przyczyn zgonów. W odniesieniu do wielu nowotworów, w tym również raka prostaty wciąż obserwujemy, że klasyczne możliwości terapeutyczne nie pozwalają na całkowite wyleczenie pacjenta będącego już w zaawansowanym stadium choroby z licznymi przerzutami. Obecnie poszukuje się nowych metod terapeutycznych opartych zarówno na łączeniu już istniejących terapii w celu uzyskania synergizmu, jak i uwrażliwianiu komórek raka prostaty na obecnie dostępną już terapię. Jedną z propozycji strategii jest kojarzenie terapii klasycznej – chemioterapii, radioterapii z innymi czynnikami o umiarkowanej toksyczności. Wybór dodatkowego czynnika nasilającego efektywność terapii klasycznej musi być podyktowany znajomością biologii nowotworu oraz przemian zachodzących w komórce nowotworowej. Do zmian obserwowanych w większości nowotworów należy zmiana aktywności szlaków pozyskiwania energii. Efekt ten określa się jako efekt Warburga i polega na aktywacji glikolizy, mimo nieograniczonego dostępu do tlenu. Słaba aktywacja glikolizy, a więc silne uzależnienie od oddychania mitochondrialnego stanowi podstawę do założenia, iż zastosowanie związków zakłócających funkcję mitochondriów spowoduje synergizm działania tych związków z klasycznymi lekami cytostatycznymi i promieniowaniem X.

Celem badań była ocena możliwości uwrażliwienia komórek raka prostaty na klasyczne cytostatyki oraz promieniowanie X za pomocą modelowych związków zaburzających funkcję mitochondriów. Dodatkowo, w oparciu o zużycie egzogennej glukozy, syntezę mleczanu i spadek stężenia ATP pod wpływem 2,4-DNP podjęto próbę zdefiniowania kryteriów klasyfikacji fenotypów metabolicznych badanych linii komórkowych oraz próbę powiązania tych fenotypów ze spodziewanymi efektami synergii.

Badania przeprowadzono z wykorzystaniem trzech linii komórkowych raka prostaty: PC-3, DU-145 oraz LNCaP. Zastosowano trzy modelowe związki zaburzające funkcjonowanie mitochondriów o różnych mechanizmach działania: 2,4-dinitrofenol (2,4-DNP), etanol oraz cyjanek potasu. Do dalszych badań działania łącznego z promieniowaniem X oraz klasycznymi cytostatykami wybrano jedynie 2,4-DNP w stężeniu 100 μM . Ocenę fenotypu metabolicznego badanych linii dokonano na podstawie pomiaru stężenia glukozy oraz stężenia mleczanu w pożywce hodowlanej w trakcie 72-godzinnej inkubacji komórek. Dodatkowo w badanych komórkach oceniono zagęszczenie mitochondriów za pomocą barwienia fluorescencyjnego oraz oceniono stopień hamowania syntezy ATP pod wpływem 2,4-DNP. Dawkę promieniowania X do badań nad efektem łączonym z 2,4-DNP wybrano na podstawie zmian morfologii komórek oraz analizy cyklu komórkowego, a wartości stężeń piętnastu klasycznych cytostatyków wybrano na podstawie testu MTT. Ocenę działania łącznego promieniowania X w dawce 10 Gy z 2,4-DNP w stężeniu 100 μM przeprowadzono na podstawie analizy morfologii komórek, cyklu

komórkowego oraz przy pomocy testów MTT i CVS. Ocenę działania łącznego klasycznych cytostatyków z 2,4-DNP dokonano na podstawie testu MTT. W celu potwierdzenia ewentualnego efektu synergistycznego odnotowanego w teście MTT wykonano analizę cyklu komórkowego.

Na podstawie przeprowadzonych badań wyciągnięto następujące wnioski: (1) Stwierdzono synergizm działania cytotoksycznego 2,4-DNP w połączeniu z promieniowaniem X tylko w odniesieniu do linii LNCaP. (2) Również jedynie w przypadku linii LNCaP stwierdzono synergizm działania cytotoksycznego leków przeciwnowotworowych z 2,4-DNP. Synergizm taki wykazano w połączeniu 2,4-DNP z alkaloidami *Vinca* (winkrystyna, winorelbina), antracyklinami (doksorubicyna, epirubicyna), cisplatiną oraz etopozydem. (3) Na podstawie analizy zmian stężeń egzogennej glukozy, mleczanu oraz spadku stężenia ATP pod wpływem 2,4-DNP można zdefiniować następujące kryteria fenotypu metabolicznego: wydajność syntezy mleczanu, pochodzenie mleczanu z innych źródeł niż glukoza, stopień wykorzystania egzogennej glukozy oraz potencjał/zależność od oksydacyjnej fosforylacji. (4) Spośród wymienionych powyżej kryteriów linia LNCaP, w której jako jedynej zaobserwowano efekty synergii z promieniowaniem X i cytostatykami, wyróżnia się skrajnie niskim stopniem wykorzystania glukozy oraz wysokim potencjałem/zależnością od oksydacyjnej fosforylacji. Dalsze badania mogą wyjaśnić, czy synergia jest zależna od takiego wzoru fenotypu metabolicznego.