Załączniki:

Streszczenie

Pomimo szeroko rozpowszechnionej kampanii profilaktycznej nowotwór piersi nadal jest jednym z najczęściej występujących nowotworów wśród kobiet w krajach uprzemysłowionych i pozostaje drugą, zaraz po raku płuc przyczyną śmierci kobiet na całym świecie. Jako choroba złożona, może być wywołana przez różne czynniki i do tej pory nie udało się stworzyć zamkniętej listy przyczyn wpływających na ryzyko jej powstawania. W etiopatogenezie nowotworu gruczołu piersiowego bardzo dużą rolę przypisuje się hormonom gonadowym, głównie estrogenom, które mogą zarówno inicjować, jaki i promować proces kancerogenezy. Badania epidemiologiczne wykazały, że 90% nowotworów piersi ma pochodzenie środowiskowe zależne od stylu życia, a tylko niewielka liczba przypadków podłoże genetyczne. W związku z tym, w aspekcie czynników wpływających na ryzyko zachorowalności na nowotwór piersi, w ciągu ostatnich kilku lat znacznie wzrosło zainteresowanie ksenoestrogenami, czyli substancjami obcego pochodzenia zdolnymi do wywołania odpowiedzi organizmu poprzez łączenie się z receptorami estrogenowymi.

Parabeny (alkilowe estry kwasu p-hydroksybenzoesowego) to substancje wykazujące właściwości przeciwbakteryjne i konserwujące, dzięki którym znalazły szerokie zastosowanie w przemyśle spożywczym, farmaceutycznym i kosmetycznym. Substancje te łatwo ulegają akumulacji w tkance tłuszczowej, zostały uznane za słabe ksenoestrogeny i są zaliczane do grupy związków zaburzających gospodarkę hormonalną organizmu (Endocrine Disruptors Chemicals), które mogą wchodzić w interakcję z układem hormonalnym, wykorzystując szlaki transdukcji sygnału endogennych hormonów. Obecność parabenów w niezmienionej, biologicznie aktywnej formie została wykryta zarówno w gruczole piersiowym jak i w tkankach nowotworu piersi.

Celem głównym prezentowanej rozprawy doktorskiej było określenie relacji pomiędzy procesami związanymi z powstawaniem i progresją nowotworu piersi a codziennym stosowaniem kosmetyków, głównie antyperspirantów zawierających parabeny. W celu realizacji założeń prezentowanej rozprawy sprawdzono wpływ trzech najczęściej występujących w kosmetykach parabenów (metyl-, propyl- i butylparabenu) na wybrane parametry związane z powstawaniem i progresją nowotworu piersi. Badania były prowadzone równolegle na dwóch modelach badawczych: linii komórkowej ludzkiego hormonozależnego nowotworu piersi MCF-7 oraz nienowotworowej linii komórek nabłonka gruczołu piersiowego MCF-10A.

Do oceny żywotności komórek wykorzystano test AlamarBlue. Do oceny zmian ekspresji badanych genów wykorzystano metodę PCR w czasie rzeczywistym. Zmiany w poziomie białka zostały oznaczone przy użyciu metody western blot. Sekrecję estradiolu oraz oznaczenie poziomu cyklicznego adenozyno- monofosforanu (cAMP) wykonano metodą ELISA z zastosowaniem komercyjnie dostępnych zestawów.

Przeprowadzone badania wykazały stymulujący wpływ wszystkich badanych parabenów po jednokrotnej ekspozycji oraz czasowo zależny wpływ tych związków na wzrost żywotności komórek MCF-7 po ekspozycji chronicznej. Nie zaobserwowano wpływu badanych związków na poziom ekspresji genów i białek bezpośrednio zaangażowanych w cykl komórkowy i apoptozę. Wykazano, że w linii MCF-7 badane związki podnoszą ekspresję aromatazy, zwiększają sekrecję estradiolu oraz wpływają na wzrost ekspresji receptorów hormonów steroidowych takich jak Erα, Erβ czy PGR. Ponadto w komórkach linii MCF-7 zanotowano wzrost ekspresji błonowego receptora GPR30 oraz poziomu fosforylacji kinazy ERK1/2 po traktowaniu propyl- oraz n-butylparabenem. Propylparaben wpływał również na wzrost poziomu ufosforylowanej formy kinazy Akt.

W linii komórek nietransformowanych (MCF-10A) wzrost żywotności komórek zanotowano po jednokrotnym podaniu metyl- i n-butylparabenu. Wszystkie badane parabeny zwiększały ekspresję białek zaangażowanych w fazę G1/S oraz równocześnie obniżały ekspresję inhibitorów cyklu komórkowego w sposób porównywalny do 17β-estradiolu. Metylparaben zwiększał ekspresję genów anty-apoptotycznych. Dodatkowo, w komórkach MCF-10A zanotowano wzrost ekspresji receptorów Erα, Erβ, PGR i GPR30 oraz wzrost poziomu fosforylacji kinazy ERK1/2 po traktowaniu metyl- i propylparabenem. Co więcej, bloker ICI 182, 780 nie obniżał stymulowanej przez parabeny ekspresji receptorów estrogenowych.

Podsumowując, na podstawie otrzymanych wyników sugeruje się, że parabeny promują wzrost komórek nowotworowych poprzez a) aktywację lokalnej produkcji estrogenów, b) transdukcję sygnału przez klasyczny, genomowy szlak działania estrogenów, c) aktywację ścieżki sygnałowej związanej z receptorem błonowym GPR30. Ponadto sugeruje się, że w komórkach nietransformowanych mechanizm kancerogennego działanie parabenów obejmuje: a) regulację ekspresji genów i białek markerowych bezpośrednio zaangażowanych w cykl komórkowy i apoptozę, b) aktywację ścieżki sygnałowej związanej z receptorem błonowym GPR30, c) regulację ekspresji receptorów hormonów steroidowych. W związku z tym substancje te powinny być brane pod uwagę jako potencjalne czynniki kancerogenne mogące wpływać na inicjację i progresję procesu nowotworowego.

Prof. dr hab. E. L. Gregoraszczuk