

BADANIE APOPTOZY W STWARDNIENIU GUZOWATYM

Stwardnienie guzowate, jest wieloukładowym zaburzeniem genetycznym, charakteryzującym się występowaniem rozszianych guzów hamartomatycznych oraz łagodnych nowotworów w wielu narządach. Na obraz kliniczny choroby składa się szerokie spektrum i duża zmienność objawów. Zmiany skórne stanowią jedną z najczęstszych manifestacji tej choroby, zaś najpoważniejsze powikłania związane są z ośrodkowym układem nerwowym i dotyczą m.in. zmian strukturalnych mózgu, padaczki oraz opóźnienia rozwoju psychoruchowego. Przyczyną choroby są mutacje w genach *TSC1* (ang. *tuberous sclerosis complex 1*) i *TSC2* (ang. *tuberous sclerosis complex 2*), kodujących białka hamartynę i tuberynę, które jako kompleks odpowiadają za kontrolę wzrostu i podziałów komórkowych zależnych od szlaku kinazy mTOR (ang. *mammalian target of rapamycin*). Kompleks ten jest regulowany potranslacyjnie przez kilka głównych szlaków sygnałowych, takich jak stymulowane czynnikami wzrostu szlaki kinaz AKT (kinaza białkowa B) oraz ERK (ang. *extracellular signal - regulated kinase*; kinaza regulowana sygnałem zewnątrzkomórkowym). Jednocześnie nawet w niewielkich zmianach chorobowych, mimo ich stopniowej progresji, obserwuje się silną aktywację apoptozy.

Z uwagi na rosnące zapotrzebowanie na identyfikację nowych celów terapeutycznych i zrozumienie korelacji między aktywacją szlaku mTOR (ang. *mammalian target of rapamycin*) i apoptozy oraz brakiem śmierci komórek z mutacjami w genach *TSC*, za główny cel badań obrano uzupełnienie wiedzy w tym zakresie. W niniejszej pracy dokonano analizy porównawczej linii komórkowych fibroblastów pochodzących ze skóry niezmienionej oraz guza hamartomatycznego od pacjentki ze stwardnieniem guzowatym. Przeprowadzono także analizę ekspresji genów oraz produkcji białek pro- i antyapoptotycznych dla ww. linii komórkowych oraz lizatów tkankowych uzyskanych z guzów SEGA (ang. *subependymal giant cell astrocytoma*; podwyściółkowy gwiazdziak olbrzymiokomórkowy) i włókniaków okołopaznokciowych. Dodatkowo sprawdzono wpływ kilku chemioterapeutyków na wyprowadzone linie komórkowe, w tym wenetoklaksu i doksorubicyny.

Dla fibroblastów pochodzących z włókniaka okołopaznokciowego, w porównaniu do fibroblastów skóry niezmienionej, po inkubacji komórek z doksorubicyną zaobserwowano cechy starzenia komórkowego, zahamowanie podziałów komórkowych, zmniejszenie stopnia proliferacji komórek, zmniejszenie aktywności MMP-2 (ang. *matrix metalloproteinase 2*; metaloproteinaza 2 macierzy zewnątrzkomórkowej) oraz większą podatność na stres oksydacyjny. Ponadto zaobserwowano rearanżację cytoszkieletu w komórkach obu linii.

Różnica w stosunku ekspresji genów kodujących białka pro- do antyapoptotycznych wykazała większą podatność komórek linii TSC na zastosowaną terapię. Analiza białek metodą western blot w guzach SEGA oraz włókniakach okołopaznokciowych wykazała wzmożone wytwarzanie białek proapoptotycznych, nadaktywność efektorów mTOR, znaczną nadaktywność kinazy ERK oraz, w mniejszym stopniu, kinazy AKT.

Komórki z zaburzeniem funkcji kompleksu hamartyny i tuberyny proliferują i są odporne na apoptozę z powodu złożonych zmian w sieci ekspresji i aktywacji białek pro- i antyapoptotycznych. Z uwagi na zróżnicowane mechanizmy patogenetyczne tej choroby istnieje konieczność przeprowadzenia badań porównawczych na szerokiej grupie pacjentów oraz na różnych tkankach.