

Olsztyn, dn. 06.03.2017

Streszczenie rozprawy doktorskiej **MGR. MICHAŁA MATYSIEWICZA**

**„ROLA WYBRANYCH PEPTYDÓW OPIOIDOWYCH I CYTOKIN W RAKU JELITA
GRUBEGO U CZŁOWIEKA”**

wykonanej w Katedrze Biochemii Wydziału Biologii i Biotechnologii UWM w Olsztynie,
pod kierunkiem **PROF. DR HAB. ELŻBIETY KOSTYRA, PROF. ZW.**
oraz promotora pomocniczego **DR. N. MED. KONRADA WRÓŃSKIEGO**

Każdego roku stwierdza się około jednego miliona nowych zachorowań na raka jelita grubego na świecie. Według najnowszych ustaleń uważa się, że na świecie diagnozuje się około 6% nowych przypadków tej choroby, z czego 40% tych pacjentów umiera. Rak jelita grubego jest trzecim pod względem występowania nowotworem złośliwym wśród mężczyzn i drugim u kobiet. Dokładne przyczyny powstawania raka jelita grubego nie są znane. Do głównych czynników ryzyka zalicza się jednak czynniki zewnętrzne (wpływ środowiska i nawyki żywieniowe) oraz wewnętrzne (inne choroby i czynniki genetyczne). Uważa się, że w etiologii raka jelita grubego ważną rolę mogą odgrywać peptydy opioidowe. Wśród nich najczęściej wymienia się β -endorfinę. Uważa się, że działa ona na układ nerwowy czego efektem jest powstawanie acetylocholiny i norepinefryny. Neuroprzekaźniki oddziałują na układ immunologiczny aktywując komórki odpornościowe do bezpośredniej walki z rakiem lub pośredniej sekrecji cytokin. Wśród najczęściej wymienianych cytokiny są prozapalne: interleukina-6 (IL-6), czynnik martwicy nowotworów α (TNF- α) i interleukina-1 β (IL-1 β) oraz przeciwzapalna interleukina-10 (IL-10).

Celem pracy było określenie stężenia β -endorfiny i wybranych cytokin w surowicy, moczu i tkankach guza pozyskanych od 110 pacjentów z rakiem jelita grubego oraz określenie zmian zachodzących w funkcjonowaniu komórek nowotworowych raka jelita grubego: Caco-2, HT-29 oraz komórek prawidłowych nabłonka jelita grubego: CCD 841 CoTr pod wpływem acetylocholiny, norepinefryny oraz β -endorfiny.

Badania prowadzono w trzech zaprogramowanych częściach. W pierwszej (1) oznaczono poziom β -endorfiny oraz wybranych cytokin (IL-6, TNF- α , IL-1 β oraz IL-10)

w materiale klinicznym pobranym od pacjentów z rakiem jelita grubego. W drugiej (2) przeprowadzono badania nad efektem działania neuroprzekaźników i β -endorfiny na wybrane linie komórkowe jelita grubego *in vitro*. Zbadano zmiany w sekrecji wybranych cytokin, proliferacji komórek (testem BrdU), żywotności komórek (testem wychwytu NR) oraz zmiany w ekspresji genu *MOR*. W trzeciej części (3) określono w warunkach *in vitro* efekt działania acetylocholino, norepinefryny i β -endorfinę na układ immunologiczny (PBMC) pacjentów z rakiem jelita grubego. Zaprojektowano również podwójny układ kanapkowy *in vitro*, w którym wykazano wpływ neuroprzekaźników i β -endorfiny poprzez komórki układu immunologicznego (PBMC) na proliferację komórek Caco-2, HT-29 i CCD 841 CoTr.

Stwierdzono obecność β -endorfiny w tkankach pozyskanych od pacjentów z rakiem jelita grubego i od pacjentów zdrowych. Stężenie IL-6 w surowicy, moczu i tkankach pacjentów wzrastało proporcjonalnie do stadium zaawansowania raka. Neuroprzekaźniki i β -endorfina wpływały znacząco na zmiany proliferacji komórek nowotworowych, natomiast nie stwierdzono zmian w proliferacji komórek prawidłowych nabłonka jelita grubego. Acetylocholina, norepinefryna i β -endorfina wpływały na zmiany żywotności komórek nowotworowych. Wykazano również działania cytotoksyczne badanych substancji na prawidłowe komórki nabłonkowe jelita grubego CCD 841 CoTr. Badane związki wpływały na zmiany ekspresji genu *MOR*. Stwierdzono spadek ekspresji w komórkach Caco-2 pod wpływem acetylocholino i wzrost pod wpływem norepinefryny i β -endorfiny. W przypadku komórek HT-29 ekspresja genu *MOR* była obniżona po stymulacji wszystkimi badanymi substancjami. Natomiast w komórkach CCD 841 CoTr stwierdzono wzrost ekspresji *MOR* pod wpływem norepinefryny. Badane substancje (neuroprzekaźniki i β -endorfina) wpływały na wzrost sekrecji IL-6 przez PBMC wyizolowane od pacjentów z rakiem jelita grubego. W komórkowym podwójnym układzie kanapkowym *in vitro* wykazano, że stymulacja komórek układu immunologicznego (PBMC) acetylocholiną, norepinefryną oraz β -endorfiną wpływały znacząco na obniżenie proliferacji komórek Caco-2 i HT-29. takich zmian nie obserwowano w przypadku prawidłowych komórek nabłonkowych jelita grubego.

Wciąż poszerzające się problemy raka jelita grubego zmuszają naukowców do poszukiwania nowych metod diagnostycznych i farmakologicznych. Wyniki badań w niniejszej pracy mogą przyczynić się do poszerzenia wiedzy na temat procesów biochemicznych zachodzących w organizmie pacjentów z rakiem jelita grubego.