

Title of the doctoral dissertation: Ciemna strona tolerancji endotoksyn: zwiększona podatność na raka

Doctoral dissertation abstract:

Do wytworzenia tolerancji endotoksynowej (ET) dochodzi w organizmach, które są poddawane powtarzającej się lub długotrwałej ekspozycji na endotoksynę, np. podczas infekcji bakteriami Gram-ujemnymi. Charakterystyczną cechą ET jest min. zahamowanie syntezy cytokin prozapalnych i osłabiona reakcja gorączkowa. Już wiele lat temu zaobserwowano, że długotrwanie utrzymująca się osłabiona reakcja gorączkowa w przebiegu infekcji może stanowić czynnik predysponujący do rozwoju chorób nowotworowych. Przyczyny tego istotnego z medycznego punktu widzenia zjawiska nie były znane. Mając na uwadze, że jednym z charakterystycznych objawów ET jest brak reakcji gorączkowej, wysunięto hipotezę, iż to właśnie ET może odpowiadać za osłabienie gorączkowej odpowiedzi immunologicznej u pacjentów onkologicznych. Celem pracy było zbadanie, czy ET sprzyja progresji nowotworowej.

Badania rozpoczęłam od opracowania modeli ET w dwóch systemach tj. komórkowym i organizmalnym. W warunkach *in vitro* wykonałam analizę makrofagów wykazujących tolerancję endotoksynową (Mo_{ET}), poprzez badanie poziomu różnych markerów związanych z odpowiedzią zapalną, takich jak CD14, indukowana syntaza tlenku azotu (iNOS), cyklooksygenaza 2 (COX-2), tlenek azotu (NO) oraz reaktywne formy tlenu (ROS). W porównaniu z komórkami jednorazowo ekspozycjonowanymi na LPS (Mo_{LPS}), Mo_{ET} charakteryzowały się zmniejszoną ekspresją iNOS i COX-2. Ponadto, mimo obniżonej produkcji NO w warunkach mikrośrodowiska nowotworowego, poziom ROS w tych komórkach pozostawał znacząco podwyższony.

Następnie, skupiłam się na analizie interakcji między komórkami nowotworowymi a Mo_{ET}. Moim najważniejszym odkryciem było stwierdzenie, że Mo_{ET} silniej niż kontrolne komórki nietraktowane LPS (Mo_{NT}) wspierają przeżywalność komórek nowotworowych, zwiększają ich zdolności migracyjne, potencjał klonogeny oraz zdolność do tworzenia sferoidów, co łącznie wskazuje na pronowotworowy potencjał ET. Wykazałam także, że Mo_{ET} w warunkach mikrośrodowiska nowotworowego przyjmuje fenotyp zbliżony do makrofagów typu M2, który jest uznawany za immunosupresyjny i pro-nowotworowy. Ponadto, komórki te charakteryzowały się zmienionym profilem metabolicznym, przejawiającym się odejściem od

klasycznych szlaków glikolizy i fosforylacji oksydacyjnej na rzecz alternatywnych dróg metabolicznych.

W kolejnych etapach badań zweryfikowałam wyniki uzyskane *in vitro*, wykorzystując model zwierzęcy. Wyniki badań *in vivo* potwierdziły, że ET wpływa na przebieg choroby nowotworowej, prowadząc do wyraźnego zmniejszenia przeżywalności oraz znacząco przyspieszonego wzrostu guza u stolerowanych na endotoksynę myszy z rakiem piersi (grupa ETBC) w porównaniu do myszy z rakiem piersi, które nie były stolerowane na endotoksynę (grupa BC). Ocena mediatorów immunologicznych w śledzionach pobranych od myszy ETBC wykazała obniżoną ekspresję interleukiny (IL) 6 i interferonu (IFN) γ oraz podwyższoną ekspresję iNOS (NOS2), IL-1 β , COX-2, STAT6 i czynnika stymulującego tworzenie kolonii (CSF-1) w porównaniu do myszy BC. Podobnie, analiza guzów myszy ETBC, pod kątem istotnych czynników związanych z ze stanem zapalnym, wykazała podwyższoną ekspresję IL-10, NOS2, IL-1 β , czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF), COX-2 w porównaniu do myszy BC.

Uzyskane wyniki dostarczają dowodów na to, że ET lokalnie przeprogramuje makrofagi w kierunku fenotypu pro-nowotworowego i jednocześnie modyfikuje ich odpowiedź na komórki nowotworowe. W konsekwencji można zaobserwować na poziomie całego organizmu, że ET kształtuje warunki sprzyjające rozwojowi nowotworów.

Słowa kluczowe: tolerancja endotoksynowa; czynniki prozapalne; fenotyp makrofagów M1/M2; nowotwór; immunosupresja; mikrośrodowisko guza

Anna Kontna-Ry, 27.05.2025