

Cel projektu

W badaniach planujemy sprawdzić, czy substancje takie jak fitokannabinoidy a dokładnie CBD (kannabidiol) oraz ekstrakt z rośliny konopi leczniczych (*Cannabis sativa*), które nie wywołują efektów psychoaktywnych, w połączeniu z modulacją układu endokannabinoidowego mogą redukować proces NETozy w otoczeniu mikrośrodowiska nowotworowego

Opis badań

Proces NETozy to jeden z mechanizmów obronnych neutrofilów, czyli komórek należących do naszego układu odpornościowego. Neutrofile jako pierwsza linia obrony naszego organizmu, migrują do miejsca objętego stanem zapalnym i wykorzystując, m.in. NETozę do eliminowania drobnoustrojów, komórek martwiczych, czy też komórek nowotworowych. NEToza polega na dekondensacji chromatyny, czyli rozluźnieniu struktury DNA i wydzieleniu z wnętrza komórki, tzw. zewnątrzkomórkowych sieci DNA. Mechanizm ten prowadzi niestety do śmierci litycznej neutrofilów, przez którą komórki obumierają i nie mogą dalej pełnić swoich funkcji, takich jak, np. fagocytoza, czy degranulacja. Wydzielone sieci DNA są bogato ozdobione różnorodnymi białkami a przede wszystkim enzymami, które mogą prowadzić do degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej (substancji otaczającej komórki) a nawet uszkodzenia tkanek. Mechanizm ten jest szczególnie istotny w mikrośrodowisku nowotworowym, ponieważ panuje w nim stan przewlekłego zapalenia, do którego bardzo intensywnie rekrutowane są neutrofile. Ponadto komórki nowotworowe uwalniają czynniki chemotaktyczne nasilające migrację i generowanie NETozy neutrofilów. W efekcie dochodzi do uwalnianie dużych ilości pułapek DNA a tym samym enzymów proteolitycznych, które mogą, m.in., wspierać uwalnianie komórek nowotworowych ze zrębu guza nowotworowego i umożliwiać powstawanie przerzutów.

1. W pierwszej części naszych badań chcemy sprawdzić, czy CBD, ekstrakt z konopi leczniczych oraz modulacja układu endokannabinoidowego (hamowanie / aktywacja receptorów tego układu) może redukować NETozę neutrofilów wywołaną trzema różnymi czynnikami: PMA (powszechnie stosowany induktor NETozy samobójczej), mediami kondycjonowanymi z komórek nowotworowych oraz przygotowanym przez nas koktajlem czynników wydzielanych przez komórki nowotworowe. Neutrofile izolowane będą z krwi obwodowej zdrowych dawców. Do analizy przygotowanych próbek planujemy wykorzystać cytometrię przepływową oraz technikę WesterBlot.

2. W drugiej części badań planujemy sprawdzić, czy przy zastosowaniu CBD lub ekstraktu z konopi leczniczych i równocześnie modulacja układu endokannabinoidowego (hamowanie / aktywacja receptorów tego układu) redukcja NETozy będzie miała wpływ na przerzutowy charakter komórek nowotworowych. Konkretnie, chcemy dokonać koinkubacji neutrofilów z komórkami nowotworowymi w obecności wybranych przez nas związków redukujących NETozę. Następnie wykorzystując metodę RT-qPCR chcemy sprawdzić, czy regulacja NETozy ma związek z profilem ekspresji wybranych przez nas genów, które to są charakterystyczne dla komórek nowotworowych mających wysoki potencjał przerzutowy.

Powody dla których podjęto tematykę badawczą

Wyniki dotychczas przeprowadzonych badań wskazują, że zarówno fitokannabinoid CBD jak i ekstrakt z konopi leczniczych, czy też modulacja działania układu endokannabinoidowego mogą redukować NETozę neutrofilów w środowiskach objętym stanem zapalnym. Doniesienia dotyczą jednak różnych modeli chorobowych za wyjątkiem chorób nowotworowych i ich mikrośrodowiska. Ponadto dokładny mechanizm działania fitokannabinoidów jak i układu endokannabinoidowego w kontekście redukowania NETozy i nadmiernej aktywacji neutrofilów nie został w pełni poznany. Zaproponowane przez nas badania wskazują na niezgłębioną do tej pory niszę badawczą i skupiają się na zupełnie nowym problemie, którego próba poznania może wskazać drogę do stworzenia skutecznej terapii ograniczającej NETozę neutrofilów w mikrośrodowisku nowotworowym a tym samym powstawanie przerzutów nowotworowych.

Najważniejsze spodziewane efekty

Oczekujemy, że zastosowanie CBD lub ekstraktu z konopi leczniczych wraz z modulacją układu endokannabinoidowego pozwoli zredukować proces NETozy generowany przede wszystkim mediami kondycjonowanymi oraz czynnikami wydzielanymi przez komórki nowotworowe. Ponadto oczekujemy, że ograniczenie NETozy będzie wiązało się z redukcją poziomu ekspresji genów związanych z procesem tworzenia przerzutów a wyniki naszych badań będą podstawą do kontynuowania zgłębiania poruszonego przez nas problemu badawczego.