

## **STRESZCZENIE**

**TYTUŁ ROZPRAWY DOKTORSKIEJ:** Wpływ wysiłku fizycznego na układ immunologiczny podczas karcinogenezy wywołanej N-metylo-N-nitrozomocznikiem u szczurów.

**SŁOWA KLUCZOWE:** rak piersi, trening fizyczny, N-metylo-N-nitrozomocznik, układ immunologiczny, szczury

### **Wstęp**

Rak piersi jest najczęściej występującym nowotworem złośliwym u kobiet stanowiąc jeden z największych problemów epidemiologicznych XXI wieku zarówno w Polsce jak i na świecie. Zarazem coraz większe znaczenie w prewencji pierwotnej, jak i wtórnej tej choroby przypisuje się aktywności fizycznej. Prawdopodobnie występuje szereg mechanizmów wpływających na tę zależność.

### **Cel pracy i hipotezy badawcze**

Celem pracy była ocena wpływu wysiłku fizycznego na układ immunologiczny oraz powstanie i rozwój raka listwy mlecznej wywołanego N-metylo-N-nitrozomocznikiem u szczurów.

Przyjęto poniższe hipotezy:

- Trening fizyczny działa protekcyjnie zarówno na rozwój, jak i przebieg raka listwy mlecznej.
- Mechanizmem wpływającym na rozwój i przebieg raka listwy mlecznej jest poziom proliferacji, aktywność apoptotyczna komórek nowotworowych i poziom subpopulacji limfocytów zmieniające się pod wpływem treningu fizycznego.

## **Material badawczy**

Badaną grupę (n=105) stanowiły samice szczurów rasy Sprague-Dawley ze Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach. Gryzonie podzielono na 2 modele: model prewencji pierwotnej (50 szczurów) oraz model prewencji wtórnej (55 szczurów). Następnie każdy z powyższych modeli podzielono na 3 grupy ze względu na poziom intensywności treningu fizycznego (grupa o niskim / umiarkowany / wysokim poziomie) oraz odpowiednie grupy kontrolne (brak udziału w treningu). Badania wykonano po uzyskaniu zgody komisji etycznej w Zakładzie Patomorfologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu według standardów Unii Europejskiej.

## **Metody badawcze**

Pierwszy etap badań stanowiła indukcja guza raka listwy mlecznej u miesięcznych samic szczurów poprzez dootrzewnowe podanie karcinogenu N-metylo-N-nitrozomocznika w dawce 180 mg/kg masy ciała. Po upływie 4 tygodni od podania środka podjęto proces wykrywania raka listwy mlecznej w celu określenia liczby oraz objętości guzów nowotworowych za pomocą badania palpacyjnego oraz dzięki wykorzystaniu głowicy USG.

Drugie etap badań stanowił trening fizyczny. Szczury przydzielone do modelu prewencji pierwotnej podjęły go bezpośrednio po podaniu karcinogenu, natomiast zwierzęta z modelu prewencji wtórnej rozpoczęły trening po 12 tygodniach od podania MNU. Trening gryzoni realizowany był przez okres 12 tygodni (5 dni w tygodniu) przy wykorzystaniu 3- pozycyjnej bieżni dla zwierząt. Szczury z grupy kontrolnej prowadziły sedentarny tryb życia.

Trzeci etap badań stanowiło pobranie tkanek (wszystkie guzy wykryte palpacyjnie, płuca, wątroba, śledziona, nerki, powiększone węzły chłonne oraz krew) od uśmierconych zwierząt.

Następnie przygotowano mikromacierze tkankowe oraz przeprowadzono reakcje immunohistochemiczne na skrawkach guzów..

Dalszy proces polegał na odnalezieniu zmian apoptotycznych w guzach nowotworowych, ocenie reakcji IHC oraz oznaczeniu komórek układu immunologicznego dzięki cytometrii przepływowej.

### **Metody statystyczne**

Opis statystyczny materiału obejmował wyznaczenie wartości średnich, median rozkładu i odchyłeń standardowych.

Wykorzystano głównie testy nieparametryczne. Różnice międzygrupowe (2 grupy niezależne) oceniono za pomocą testu Manna-Whitneya. Tylko masa szczura stanowiła jedyną cechę o rozkładzie normalnym, dla której zastosowano testowanie parametryczne (test t-Studenta). Zaś różnice międzygrupowe (większa liczba grup niezależnych) oceniono przy wykorzystaniu testu ANOVA Kruskala-Wallisa.

Istotność statystyczna różnicy średnich oraz korelacji oceniano przyjmując poziom krytyczny  $p < 0,05$ . Obliczenia przeprowadzono używając pakietu STATISTICA 13.1 firmy Dell.

### **Wyniki**

W modelu 1 (prewencja pierwotna) aktywność fizyczna o umiarkowanej intensywności wpływa stymulująco na antynowotworową odpowiedź organizmu poprzez wzrost poszczególnych frakcji limfocytów, dochodzi także do zwiększenia apoptozy komórek nowotworowych oraz do zmniejszenia liczby guzów nowotworowych. Natomiast podejmowana aktywność fizyczna w powyższym modelu niezależnie od poziomu intensywności treningu nie wpływa na proliferację komórek, różnice w objętości guzów, a także na czas indukcji guza.

W modelu 2 (prewencja wtórna) aktywność fizyczna o wysokiej intensywności wpływa na zwiększenie apoptozy komórek nowotworowych. Natomiast podejmowana aktywność fizyczna w powyższym modelu niezależnie od poziomu intensywności treningu nie wpływa na różnice w objętości guzów, liczbę wyinduowanych guzów na szczura lecz oddziałuje na czas indukcji guza. Należy podkreślić, że ryzyko proliferacji komórek jest większe w grupie ćwiczącej o umiarkowanej i wysokiej intensywności.

## **Wnioski**

Zarówno w modelu 1 i modelu 2 zaobserwowano protekcyjny wpływ regularnie podejmowanego treningu fizycznego na ryzyko zachorowania i przebieg raka listwy mleczej u szczurów trenujących w porównaniu z grupą kontrolną. Należy podkreślić, że systematyczny trening wpływa na zmienną tunel, która powoduje zmniejszenie rozwoju nowotworu poprzez apoptozę komórek nowotworowych.

Trening fizyczny oraz poziom jego intensywności wpływa na układ immunologiczny badanych szczurów, obserwacja odnosi się do modelu 1. Przeprowadzone badania sugerują mobilizację układu immunologicznego do walki z rakiem listwy mleczej poprzez wzrost liczebności poszczególnych frakcji limfocytów.