Wpływ składników papierosów tradycyjnych i elektronicznych na indukcję procesu EMT w raku płuca

Weronika Wójtowicz[1,2,#], Katarzyna Raszczok[2,#], Mateusz Wierzbinka[2,#], Karolina Jankowska[2,#,✉], dr n. biol. Karolina Bajdak-Rusinek[3,✉], dr hab. n. med. Kamil Barański[4]

[1] Szkoła Doktorska Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, Katedra i Zakład Epidemiologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

[2] Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Biologii Molekularnej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach, Studenci Kierunku Lekarskiego Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

[3] Katedra i Zakład Biologii Molekularnej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

[4] Katedra i Zakład Epidemiologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

https://doi.org/10.18388/pb.2021_635

✉Autor korespondencyjny: kbajdak-rusinek@sum.edu.pl; karolina.jankowska460@gmail.com

#autorzy wnieśli równy wkład w powstanie pracy

Słowa kluczowe: rak płuca; przejście epitelialno-mezenchymalne (EMT); nikotyna; e-papierosy; reaktywne formy tlenu (RFT)

Wykaz skrótów: AhR – receptor węglowodorów aromatycznych (ang. *Aryl hydrocarbon receptor*); CAF – fibroblasty związane z rakiem (ang. *Cancer-associated fibroblasts*); CSC – nowotworowe komórki macierzyste (ang. *Cancer stem cells*); EMT- przejście epitelialno-mezenchymalne (ang. *Epithelial–mesenchymal transition*); MAPK – szlak kinaz aktywowanych mitogenami (ang. *Mitogen-activated protein kinases*); nAChR – receptory nikotynowe acetylocholiny (ang. *Nicotinic acetylcholine receptors*); NSCLC - niedrobnokomórkowy rak płuca (ang. *Non-small-cell lung cancer*); RFT – reaktywne formy tlenu; TGF-β – transformujący czynnik wzrostu beta (ang. *Transforming growthfactor β*); WWA – wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (ang. *Polycyclic aromatic hydrocarbons*).

STRESZCZENIE

Rak płuca pozostaje jedną z głównych przyczyn zgonów onkologicznych na świecie, a jego rozwój jest ściśle związany z ekspozycją na dym tytoniowy. W ostatnich latach znaczną popularność zyskały e-papierosy, postrzegane jako potencjalnie bezpieczniejsza alternatywa dla tradycyjnych papierosów, jednak ich wpływ na procesy nowotworowe pozostaje niejednoznaczny. Szczególne znaczenie w tym kontekście ma przejście epitelialno-mezenchymalne (EMT, ang. *epithelial–mesenchymal transition*), odgrywające kluczową rolę w inwazji, migracji i rozwoju oporności komórek raka płuca. W niniejszym artykule omówiono aktualne dane dotyczące wpływu nikotyny, wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA, ang. *polycyclic aromatic hydrocarbons*), związków karbonylowych oraz reaktywnych form tlenu (RFT) na regulację EMT poprzez aktywację szlaków sygnałowych PI3K/AKT, MAPK/ERK, Wnt/β-katenina, Notch i HIF-1α. Zwrócono uwagę na znaczenie procesów termicznych zachodzących podczas spalania tytoniu i podgrzewania e-liquidów, prowadzących do powstawania związków o właściwościach kancerogennych. Zebrane dane wskazują, że zarówno tradycyjne papierosy, jak i e-papierosy dostarczają substancji zdolnych do indukcji EMT, co podkreśla ich rolę w patogenezie raka płuca oraz sugeruje nowe potencjalne cele terapeutyczne.

WSTĘP

Rak płuca jest jednym z najczęściej diagnozowanych nowotworów na świecie i stanowi główną przyczynę zgonów wśród pacjentów onkologicznych. Zgodnie z danymi z 2020 roku odnotowano 2,2 miliona nowych przypadków oraz niemal 1,8 miliona zgonów związanych z tą chorobą na całym świecie [1]. Rak płuca pozostaje poważnym problemem zdrowia publicznego ze względu na wysoką częstość występowania i niski wskaźnik przeżywalności [2]. Szacuje się, że odpowiada on za 11,6% wszystkich przypadków nowotworów oraz 18,4% zgonów nowotworowych [3]. Prognozy na rok 2050 wskazują na dalszy wzrost liczby nowych zachorowań do 4,62 miliona oraz liczby zgonów do 3,55 miliona, co podkreśla narastającą skalę problemu [4]. W Polsce roczna zapadalność na raka płuca wynosi około 23 000 przypadków, co plasuje go wśród najczęściej rozpoznawanych nowotworów w kraju [5]. Ze względu na niespecyficzne objawy we wczesnych stadiach choroby, takie jak nawracające infekcje, chrypka czy przewlekły kaszel, rozpoznanie raka płuca często następuje dopiero w stadium zaawansowanym, co wiąże się z wysoką śmiertelnością. Aktywne i bierne palenie papierosów uznaje się za główny czynnik ryzyka tego nowotworu – szacuje się, że odpowiada ono za nawet 90% przypadków [5,6]. Dym tytoniowy zawiera ponad 9500 związków chemicznych, spośród których co najmniej 79 wykazuje działanie rakotwórcze [7].

W ostatnich latach e-papierosy zyskały popularność jako rzekomo bezpieczniejsza alternatywa dla tradycyjnych papierosów. Badania jednak wykazały, że rzeczywisty skład aerozoli często odbiega od deklarowanego przez producentów. Ponadto skład chemiczny aerozolu zależy od temperatury osiąganej przez urządzenie oraz natężenia prądu, które w praktyce nierzadko przekraczają wartości graniczne. Stwierdzono również obecność związków nieujętych w składzie e-liquidów, takich jak glicydol – produkt termicznego rozkładu gliceryny [8].

Przejście epitelialno-mezenchymalne (EMT) zachodzi zarówno w warunkach fizjologicznych (np. embriogeneza, gojenie ran), jak i patologicznych (np. inwazja i migracja komórek nowotworowych, rozwój oporności na leczenie). Wykazano, że EMT może być indukowane nie tylko przez klasyczny czynnik TGF-β, lecz także przez hipoksję typową dla mikrośrodowiska guza. Proces ten obejmuje utratę polaryzacji komórek, osłabienie połączeń międzykomórkowych oraz zmiany w ekspresji białek cytoszkieletu i składników macierzy zewnątrzkomórkowej [9,10]. Nikotyna i inne związki obecne w dymie papierosowym oraz aerozolu e-papierosów, takie jak wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne

Tabela 1. Zestawienie wybranych markerów epitelialnych i mezenchymalnych oraz ich zmiany ekspresji w procesach EMT i MET.

Marker	Typ markera	Proces EMT	Proces MET	Źródło
E-kadheryna	Nabłonkowy	Spadek	Wzrost	[12]
Cytokeratyny	Nabłonkowy	Spadek	Wzrost	[14]
ZO-1	Nabłonkowy	Spadek	Wzrost	[17]
EpCAM	Nabłonkowy	Spadek	Wzrost	[17]
Wimentyna	Mezenchymalny	Wzrost	Spadek	[12]
N-kadheryna	Mezenchymalny	Wzrost	Spadek	[12]
Fibronektyna (FN1)	Mezenchymalny	Wzrost	Spadek	[14]

(WWA) i związki karbonylowe, mogą indukować EMT w komórkach nabłonka płuc poprzez aktywację różnych szlaków sygnałowych [11].

Celem niniejszej pracy jest przegląd aktualnej literatury dotyczącej wpływu składników tradycyjnych papierosów i e-papierosów – ze szczególnym uwzględnieniem substancji kancerogennych – na indukcję EMT w komórkach raka płuca oraz omówienie mechanizmów molekularnych i potencjalnych konsekwencji klinicznych tego zjawiska. Terapie ukierunkowane na zahamowanie EMT mogą przyczynić się do ograniczenia powstawania przerzutów, a tym samym do poprawy rokowania i przeżywalności pacjentów z rakiem płuca.

PROCESY EMT ORAZ MET

W przebiegu EMT komórki nabłonkowe ulegają szeregowi przemian prowadzących do nabycia cech charakterystycznych dla fenotypu mezenchymalnego. W rezultacie tracą apikalno-bazalną polaryzację oraz silne połączenia międzykomórkowe – kluczowe właściwości typowe dla komórek nabłonkowych. Jednocześnie dochodzi do zmian w ekspresji białek cytoszkieletu i składników macierzy zewnątrzkomórkowej, co jest wynikiem działania aktywowanych czynników transkrypcyjnych (opisanych w dalszej części rozdziału). Konsekwencją tych procesów jest zwiększona zdolność komórek – zarówno znajdujących się w ogniskach przerzutowych, jak i występujących jako krążące komórki nowotworowe – do migracji, inwazji oraz zwiększona oporność na apoptozę, czyli nabycie właściwości sprzyjających rozsiewowi nowotworu [10,12].

Zasadniczą rolę w inicjowaniu EMT odgrywają czynniki transkrypcyjne, takie jak ZEB1/2, SNAIL, SLUG oraz TWIST. ZEB1 i ZEB2 wiążą się z DNA w obrębie sekwencji regulatorowych typu E-box (ang. *enhancer box*) – specyficznych fragmentów genomu eukariotycznego stanowiących miejsca wiązania czynników transkrypcyjnych – co prowadzi do zahamowania ekspresji genów odpowiedzialnych za utrzymanie nabłonkowego fenotypu. Podobnie czynnik SNAIL1, poprzez wiązanie z sekwencjami E-box, represjonuje transkrypcję genu kodującego E-kadherynę, kluczowe białko adhezyjne, ułatwiając tym samym odłączanie się komórek od guza pierwotnego. W obniżaniu ekspresji genów charakterystycznych dla komórek nabłonkowych uczestniczą również SLUG i TWIST, które równocześnie aktywują transkrypcję markerów mezenchymalnych, takich jak N-kadheryna i wimentyna [13,14].

Jednym z najbardziej uchwytnych efektów procesu EMT są zmiany w ekspresji charakterystycznych markerów epitelialnych i mezenchymalnych. Zestawienie najczęściej analizowanych białek oraz kierunku ich zmian w EMT i procesie odwrotnym – MET – przedstawiono w Tabeli 1.

Proces odwrotny do EMT stanowi przejście mezenchymalno-nabłonkowe (MET, ang. *Mesenchymal- epithelial transition*). MET jest kontrolowane przez grupę czynników transkrypcyjnych określanych wspólnie jako MET-TFs (ang. *MET transcription factors*). Ta stosunkowo słabiej poznana grupa obejmuje różnorodne białka należące do kilku rodzin, m.in. OVOL2 (ang. *Ovo-Like Transcriptional Repressor 2*), KLF4 (ang. *Krüppel-like factor 4*), GRHL2 (ang. *Grainy head-like protein 2*) oraz członków rodziny ETS, takich jak E74-like ETS transcription factor 3 i 5. Czynniki te działają poprzez bezpośrednie hamowanie ekspresji genów kodujących markery mezenchymalne, co umożliwia komórkom o fenotypie mezenchymalnym odzyskanie właściwości nabłonkowych, takich jak ścisłe połączenia międzykomórkowe oraz utrata zdolności migracyjnych [15].

Z klinicznego punktu widzenia proces MET ma istotne znaczenie, ponieważ umożliwia komórkom nowotworowym kolonizację nowych tkanek i tworzenie ognisk przerzutowych. Odwracalność przejść EMT i MET sprzyja plastyczności fenotypowej komórek nowotworowych, co może utrudniać skuteczne leczenie oraz przyczyniać się do nawrotów choroby po terapii. Zrozumienie mechanizmów regulujących MET może mieć kluczowe znaczenie dla opracowania strategii terapeutycznych ograniczających przerzutowanie i oporność nowotworów [15].

EMT W RAKU PŁUCA

Znaczenie procesu EMT w raku płuca potwierdza fakt, że w momencie rozpoznania aż 60% pacjentów ma obecne przerzuty, co istotnie obniża 5-letni wskaźnik przeżycia. Inwazja komórek nowotworowych wymaga powstania reaktywnego podścieliska o charakterze desmoplastycznym – obfitego, włóknistego zrębu tkanki łącznej otaczającego komórki nowotworowe – które formuje się właśnie w wyniku EMT [16]. Podścielisko to stanowi dynamiczne mikrośrodowisko złożone głównie z fibroblastów i miofibroblastów, składników macierzy zewnątrzkomórkowej oraz licznych cytokin i czynników wzrostu.

Aktywowane fibroblasty nowotworowe (CAF, ang. *cancer-associated fibroblasts*) wydzielają m.in. TGF-β, IL-6, PDGF i FGF - silne induktory EMT - które jednocześnie sprzyjają utrzymaniu fenotypu nowotworowych komórek macierzystych (CSC, ang. *cancer stem cells*). Subpopulacja CSC odpowiada za nawroty choroby, zwiększoną oporność na terapie standardowe i celowane, a tym samym za niekorzystne rokowanie [17]. Ponadto czynnik transkrypcyjny Brachyury, związany z procesem EMT, został powiązany z progresją raka płuca oraz jego opornością na radio- i chemioterapię, co dodatkowo sprzyja nawrotom choroby [18].

Jednym z najważniejszych induktorów EMT w zaawansowanym raku płuca jest TGF-β. Po związaniu z receptorem błonowym aktywuje on fosforylację białek Smad2 i Smad3, które następnie tworzą z Smad4 kompleks transkrypcyjny. W jądrze komórkowym kompleks ten indukuje ekspresję genów docelowych, takich jak SNAIL1, ZEB czy SLUG. TGF-β reguluje również reorganizację cytoszkieletu za pośrednictwem małych GTPaz (Ras, Rho, Rac), modulując tym samym kształt i zdolności migracyjne komórek [19].

Do kluczowych regulatorów EMT należą także czynniki transkrypcyjne TWIST, Goosecoid i FOXC2. Nadekspresja TWIST1 indukuje EMT, natomiast jego wyciszenie ogranicza tworzenie przerzutów w modelach zwierzęcych. Goosecoid, podobnie jak TWIST1, sprzyja transformacji i inwazyjności komórek nabłonkowych, a dodatkowo aktywuje FOXC2, który reguluje ekspresję genów mezenchymalnych [19].

Istotnym elementem sieci regulacyjnej EMT jest kinaza GSK3β, której aktywność hamowana jest przez szlaki AKT/PKB, Wnt oraz Hedgehog. W stanie aktywnym GSK3β promuje degradację czynnika SNAI1, natomiast jej zahamowanie prowadzi do stabilizacji tego białka, represji E-kadheryny i aktywacji EMT. Dodatkowo białko PAK1 stabilizuje SNAI1 w jądrze komórkowym, nasilając represję genów epitelialnych [19].

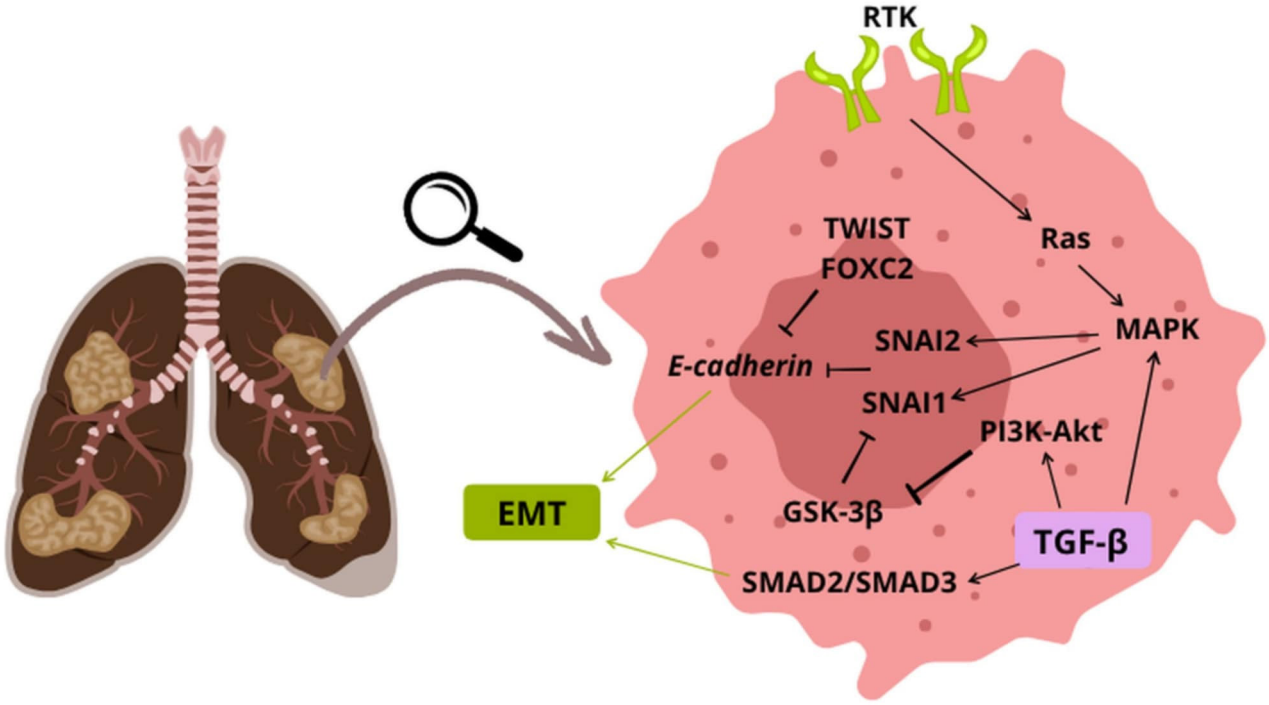
EMT w raku płuca jest zatem procesem kontrolowanym przez złożoną sieć czynników transkrypcyjnych i szlaków sygnałowych, których wspólnym efektem jest utrata cech epitelialnych, reorganizacja cytoszkieletu oraz nabycie fenotypu mezenchymalnego. Zmiany te umożliwiają komórkom nowotworowym migrację, inwazję i tworzenie przerzutów, a jednocześnie przyczyniają się do rozwoju oporności na leczenie, czyniąc EMT jednym z kluczowych mechanizmów progresji raka płuca.

Rycina 1 przedstawia kluczowe szlaki sygnałowe prowadzące do indukcji EMT w komórkach raka płuca, obejmujące aktywację RTK i TGF-β, a następnie uruchomienie kaskad Ras/MAPK oraz PI3K/AKT, które regulują czynniki transkrypcyjne EMT, takie jak SNAI1, SNAI2, TWIST i FOXC2, prowadząc do represji E-kadheryny.

SKŁAD DYMU TYTONIOWEGO I AEROZOLU E-PAPIEROSOWEGO

Nikotyna jest głównym składnikiem psychoaktywnym papierosów, a jej działanie prowadzi do rozwoju uzależnienia, co skutkuje przewlekłą ekspozycją na substancje rakotwórcze obecne w dymie papierosowym lub w aerozolu e-papierosów [20]. Chociaż sama nikotyna nie jest klasyfikowana jako kancerogen, może modulować procesy związane z kancerogenezą [21]. Jej zawartość oraz forma chemiczna różnią się w zależności od rodzaju produktu.

W e-liquidach nikotyna występuje w dwóch formach chemicznych - jako wolna zasada lub sól nikotynowa - a o dominującej postaci decyduje pH płynu [22]. W e-papierosach ilość nikotyny w pojedynczym zaciągnięciu mieści się w zakresie od 8 µg do 33 µg, podczas gdy w papierosach



Rycina 1. Przegląd kluczowych szlaków sygnalizacyjnych zaangażowanych w proces indukcji i regulacji przejścia nabłonkowo- mezenchymalnego w raku płuca. Źródło inspiracji [19].
EMT – przejście epitelialno-mezenchymalne, RTK-Receptor kinazy tyrozynowej, TGF-β – transformujący czynnik wzrostu beta, TWIST – czynnik transkrypcyjny TWIST1, FOXC2 – czynnik transkrypcyjny FOXC2 (z rodziny forkhead), E-cadherin – E-kadheryna, Ras – białko z rodziny GTPaz, MAPK- kinaza białkowa aktywowana mitogenami, PI3K-Akt- szlak sygnałowy PI3K/Akt odpowiedzialny za przeżycie, wzrost i migrację komórek, GSK-3β- kinaza syntazy glikogenu 3 beta, SMAD2/ SMAD3- białka SMAD 2 i 3, przekaźniki sygnału TGF-β.

tradycyjnych wynosi od 94 µg do 232 µg na jedno zaciągnięcie [23]. Średnie stężenie nikotyny we krwi osoby palącej wynosi około 0,2 µM i wzrasta do co najmniej 10 µM po wypaleniu jednego papierosa. Wykazano, że stężenia nikotyny już w zakresie 0,1–10 µM mogą sprzyjać indukcji EMT, a tym samym zwiększać inwazyjność i migrację komórek niedrobnokomórkowego raka płuca (NSCLC, ang. *non-small-cell lung cancer*) [24].

Dym papierosowy zawiera ponad 79 substancji uznawanych za kancerogenne [9]. Wśród nich znajdują się związki karbonylowe, takie jak formaldehyd (IARC – grupa 1), aldehyd octowy i akroleina [25]. Ekspozycja na te związki prowadzi do podrażnienia dróg oddechowych oraz indukuje przewlekły stan zapalny, który sprzyja rozwojowi nowotworów. Mechanizm ten wiąże się z nasileniem stresu oksydacyjnego i nadprodukcją reaktywnych form tlenu (RFT, ang. *Reactive oxygen species*) [26].

Kolejną istotną grupę komponentów papierosów stanowią wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), takie jak benzo(a)piren, benzo(a)antracen i dibenzo(a)antracen, a także metale ciężkie, w tym ołów, nikiel i kadm [25]. Benzo(a)piren oraz związki niklu zostały sklasyfikowane przez IARC jako kancerogeny grupy 1 [27]. Najnowsze badania wskazują ponadto, że zawartość metali ciężkich w aerozolach i e-liquidach może być wyższa niż w papierosach tradycyjnych [28].

Kolejną grupę składników e-papierosów stanowią aromaty dodawane do e-liquidów w celu poprawy walorów smakowych [29]. Glikol propylenowy i gliceryna roślinna pełnią funkcję nośników dla aromatów i nikotyny [28], a jednocześnie są substratami, których termiczny rozkład prowadzi do powstawania związków karbonylowych, takich jak formaldehyd, acetaldehyd czy akroleina [8].

Wśród najczęściej stosowanych aromatów znajdują się aldehyd cynamonowy, wanilina oraz dimetylopirazyna [30]. Choć związki te są uznawane za bezpieczne w zastosowaniach spożywczych, ich inhalacja może powodować podrażnienie i uszkodzenie nabłonka dróg oddechowych, m.in. poprzez indukcję stresu oksydacyjnego i cytotoksyczność [29,31]. Należy podkreślić, że aerozol e-papierosów praktycznie nie zawiera tlenku węgla (CO), będącego charakterystycznym produktem niecałkowitego spalania liści tytoniu. Dla porównania, w dymie papierosów konwencjonalnych stężenie CO wynosi średnio od 2683 µg do 2967 µg na jedno zaciągnięcie [25].

Ze względu na znaczące różnice w składzie chemicznym dymu papierosowego i aerozolu e-papierosów, istotne jest zestawienie konkretnych wartości stężeń kluczowych związków oraz ich klasyfikacji rakotwórczości. Szczegółowe porównanie przedstawiono w Tabeli 2.

Zebrane dane wskazują, że zarówno tradycyjne papierosy, jak i e-papierosy dostarczają do organizmu liczne substancje o potencjale kancerogennym, które poprzez indukcję stresu oksydacyjnego, stanu zapalnego oraz uszkodzeń nabłonka mogą sprzyjać inicjacji EMT. Dokładny wpływ poszczególnych grup związków na szlaki sygnałowe zaangażowane w ten proces zostanie omówiony w kolejnych częściach artykułu.

PROCESY TERMICZNE

Podczas palenia papierosów tradycyjnych temperatura żaru osiąga około 900 °C [39]. Towarzyszą temu procesy spalania, pirolizy i destylacji, w wyniku których powstaje szerokie spektrum toksycznych i rakotwórczych substancji chemicznych, w tym wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), związki karbonylowe oraz wolne rodniki [38].

W przypadku e-papierosów producenci deklarują znacznie niższe temperatury podgrzewania płynu – w zakresie 200–300 °C. Aerozol powstaje w wyniku odparowania e-liquidu doprowadzanego do grzałki za pomocą knota z włókna krzemionkowego, wokół którego nawinięta jest spirala grzewcza. Ostateczna temperatura odparowania zależy od wielu czynników, takich jak napięcie baterii, na-

Tabela 2. Porównanie stężeń wybranych związków chemicznych w dymie papierosów tradycyjnych i w aerozolu e-papierosów wraz z klasyfikacją ich rakotwórczości według IARC [34,35,36].

Substancja	Klasyfikacja IARC*	Stężenie (papieros tradycyjny)	Stężenie (e-papieros)	Skutek biologiczny
Nikotyna	3	0,21 mg/ zaciągnięcie**	148,8 µg/ zaciągnięcie	Stymuluje karcynogenezę[21]
Formaldehyd	1	5,057 µg/ zaciągnięcie	146,5 ng/ zaciągnięcie	Zwiększa proliferację poprzez wzrost ekspresji cykliny D1 i E1 [35]
Aldehyd octowy	2B	166,5µg/ zaciągnięcie	121,3 ng/ zaciągnięcie	Podrażnia nabłonek dróg oddechowych [8]
Akroleina	2A	30,5µg/ zaciągnięcie	115 ng/ zaciągnięcie	Powoduje podrażnienie błon śluzowych, uszkodzenie nabłonka płuc i udział w chorobach układu krążenia [36]
Nikiel	2B	0,066 ng/ zaciągnięcie	1,04 ng/ zaciągnięcie	Uszkadza układ immunologiczny i neurologiczny, nasila procesy rakotwórcze [25]
Ołów	2A	3,2 ng/ zaciągnięcie	0,08ng/ zaciągnięcie	Uszkadza układ immunologiczny i neurologiczny, nasila procesy rakotwórcze [25]
CO	3	2,829 mg/ zaciągnięcie	<0.01 mg/ zaciągnięcie	Przyczynia się do hipoksji [25]

*1 - rakotwórcze dla człowieka, 2A - prawdopodobnie rakotwórcze dla człowieka, 2B - możliwie rakotwórcze dla człowieka, 3 - niemożliwe do sklasyfikowania
**zaciągnięcie jest mierzone jako objętość 55ml

tężenie prądu, rozmiar grzałki, ilość transportowanego płynu, pojemność cieplna e-liquidu oraz prędkość przepływu powietrza [8].

Doświadczalne pomiary wykazały jednak, że temperatura odparowywania może sięgać nawet 350 °C. W takich warunkach zachodzą zarówno procesy fizyczne, jak i reakcje chemiczne głównych składników e-liquidów — glikolu propylenowego i gliceryny. Produktem ich rozkładu są związki karbonylowe, takie jak formaldehyd, aldehyd octowy, akroleina oraz aceton [36]. Dodatkowo w badaniach Sleimana i wsp. wykazano obecność glicydolu - potencjalnie kancerogennego związku (IARC, grupa 2A) - powstającego w wyniku termicznego rozkładu gliceryny, który nie jest deklarowany przez producentów jako składnik aerozolu [8].

Uzyskane dane jednoznacznie wskazują, że procesy termiczne, zarówno spalania tytoniu, jak i podgrzewania e-liquidów, prowadzą do powstawania toksycznych oraz potencjalnie rakotwórczych produktów ubocznych. Związki te mogą inicjować stres oksydacyjny i uszkodzenia nabłonka oddechowego, tworząc warunki sprzyjające indukcji EMT oraz progresji raka płuca.

Badania dotyczące e-papierosów są jednak trudniejsze do przeprowadzenia, a uzyskiwane wyniki mniej spójne niż w przypadku papierosów tradycyjnych. Wynika to m.in. z różnic w tzw. charakterystyce zaciągnięć (ang. *puff topography*), opisującej sposób inhalacji produktów nikotynowych, który różni się w zależności od rodzaju wyrobu. Na wyniki eksperymentów wpływają również czynniki indywidualne, takie jak historia palenia czy płeć uczestników. W badaniach nad e-papierosami kluczowe znaczenie ma stosowanie produktów tego samego producenta, o identycznej zawartości nikotyny i aromatów, co pozwala na uzyskanie porównywalnych i powtarzalnych wyników [39].

MECHANIZMY INDUKCJI EMT PRZEZ SKŁADNIKI PAPIEROSÓW I E-PAPIEROSÓW W KOMÓRKACH NABŁONKA I RAKA PŁUCA

WPŁYW NIKOTYNY NA EMT

Nikotyna działa poprzez wiązanie się z receptorami nikotynowymi acetylocholiny (nAChR, ang. *Nicotinic acetylcholine receptors*). Oddziałując na podtyp α7-nAChR, sprzyja indukcji EMT oraz zwiększa inwazyjność i migracyjność komórek raka płuca. Aktywacja tego receptora uruchamia m.in. kaskadę MEK/ERK, należącą do rodziny MAPK (ang. *mitogen-activated protein kinases*), co prowadzi do zwiększonej ekspresji markerów mezenchymalnych, takich jak wimentyna i fibronektyna, przy jednoczesnym obniżeniu poziomu E-kadheryny. Efekt ten jest dodatkowo wzmacniany przez TGF-β, jeden z kluczowych regulatorów EMT [24].

Nikotyna, poprzez aktywację α7-nAChR, stymuluje również szlak PI3K/mTOR, którego pobudzenie prowadzi do zwiększonej ekspresji PPARβ/δ, nasilonej proliferacji i progresji nowotworu [40]. Ponadto aktywuje ona szlak Wnt3a, który poprzez sygnalizację Wnt/β-katenina sprzyja utrwaleniu fenotypu mezenchymalnego [14,41].

Podsumowując, nikotyna może modulować wiele onkogennych szlaków sygnałowych, których wspólnym efektem jest utrata markerów epitelialnych i wzmocnienie cech mezenchymalnych w komórkach raka płuca (ukazane na abstrakcie graficznym).

WPŁYW WWA NA EMT

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) mogą indukować EMT poprzez zwiększenie ekspresji czynników TWIST i TGF-β, a także poprzez aktywację receptora węglowodorów aromatycznych (AhR, ang. *aryl hydrocarbon receptor*). Akumulacja AhR w jądrze komórkowym po ekspozycji na dym papierosowy prowadzi do zwiększonej transkrypcji czynnika SLUG [44].

Ekspresja AhR jest podwyższona w gruczolakoraku płuca [41], co sugeruje jego potencjalny udział w progresji tego nowotworu [40]. Co ciekawe, badania Tsai i wsp. wykazały, że wysoka ekspresja AhR w gruczolakoraku może być związana z niższą migracyjnością komórek i utrzymaniem fenotypu epitelialnego, podczas gdy w innych typach NSCLC obserwuje się efekt odwrotny – wzrost potencjału migracyjnego i ekspresji markerów EMT [42].

Wpływ WWA na EMT wydaje się zatem złożony i zależny od kontekstu molekularnego oraz typu histologicznego raka płuca.

WPŁYW RFT NA EMT

Stres oksydacyjny i przewlekły stan zapalny stanowią kluczowe czynniki wspierające progresję nowotworową [26]. Reaktywne formy tlenu (RFT, ang. *reactive oxygen species, ROS*) regulują migrację, proliferację i apoptozę komórek, odgrywając istotną rolę w indukcji EMT [43].

Jednym z głównych generatorów RFT w komórkach nowotworowych jest enzym NOX4 (ang. *NADPH oxidase 4*), którego aktywność prowadzi do generacji nadtlenku wodoru. Ekspresja NOX4 jest podwyższona w komórkach NSCLC i jeszcze wyższa w ogniskach przerzutowych [44]. RFT generowane przez NOX4 aktywują szlaki MAPK, PI3K/AKT i NF-κB, wspierając proces EMT, zwiększając inwazyjność komórek oraz ich przeżywalność [45]. Formaldehyd, jeden z głównych składników dymu tytoniowego i aerozolu e-papierosów, indukuje EMT poprzez nasilanie stresu oksydacyjnego i deregulację białka NUMB, będącego inhibitorem szlaku Notch. Zaburzenie funkcji NUMB prowadzi do nadaktywacji sygnalizacji Notch, co ułatwia przeprogramowanie epitelialno-mezenchymalne [35,46]. RFT aktywują również czynnik HIF-1α (ang. *hypoxia-inducible factor 1-alpha*), którego ekspresja wzrasta w warunkach hipoksji, typowej dla mikrośrodowiska nowotworów. HIF-1α integruje sygnały z wielu szlaków, w tym PI3K/AKT i MAPK/ERK, prowadząc do zwiększonej ekspresji genów związanych z EMT oraz nasilonej migracji, proliferacji i przeżywalności komórek nowotworowych [47,48].

Nadmierna produkcja RFT może zatem stanowić centralny mechanizm indukujący EMT, działając poprzez aktywa-

Tabela 3. Wpływ substancji zawartych w dymie tytoniowym i aerozolu e-papierosowym na proces EMT.

Substancja	Wpływ na EMT
Nikotyna	Aktywacja receptora α7-nAChR przez nikotynę uruchamia kaskadę MEK/ERK oraz PI3K/mTOR [24,40]
Związki karbonylowe	Wzmożenie produkcji RFT i indukcja stanu zapalnego, sprzyjając procesowi EMT [26]
Nikiel	Uszkodzenie retikulum endoplazmatycznego poprzez akumulację niepoprawnie złożonych białek. Stres retikulum endoplazmatycznego powoduje wzrost poziomu białek BIP, PERK, IRE-1α, XBP-1s i ATF6 które biorą udział w procesie EMT [49]
Ołów	Wzrost ekspresji czynnika transkrypcyjnego SNAI1[50]
CO	Hipoksja spowodowana tlenkiem węgla (II) indukuje czynniki takie jak HIF1α, czynnik ten uczestniczy w nadekspresji czynnika TWIST [14]

cję licznych szlaków sygnałowych o charakterze onkogennym i supresorowym.

Najważniejsze substancje występujące w dymie papierosowym oraz aerozolu e-papierosów, wraz z ich udokumentowanym wpływem na indukcję EMT, zestawiono w Tabeli 3.

PODSUMOWANIE

Dostępne dane wskazują, że nikotyna, mimo iż nie jest klasyfikowana jako kancerogen, może istotnie modulować kluczowe szlaki sygnałowe związane z kancerogenezą, w tym indukcję przejścia epitelialno-mezenchymalnego (EMT). Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), takie jak benzo(a)piren, oddziałują głównie poprzez receptor węglowodorów aromatycznych (AhR), którego nadekspresja została powiązana z rozwojem gruczolakoraka płuca oraz różnicami w potencjale inwazyjnym komórek nowotworowych.

Istotną rolę w regulacji EMT odgrywają również reaktywne formy tlenu, których nadprodukcja prowadzi do aktywacji szlaków MAPK, PI3K/AKT i NF-κB, a także stabilizacji HIF-1α – czynników wspólnie sprzyjających przeprogramowaniu fenotypu komórek nabłonkowych w kierunku mezenchymalnym. Na proces ten wpływają także reakcje termiczne towarzyszące spalaniu tytoniu i podgrzewaniu e-liquidów, prowadzące do powstawania toksycznych związków karbonylowych, takich jak formaldehyd, aldehyd octowy i akroleina. Substancje te nasilają stres oksydacyjny, indukują przewlekły stan zapalny oraz uszkadzają nabłonek dróg oddechowych, co dodatkowo sprzyja inicjacji EMT.

Łącznie wyniki badań jednoznacznie wskazują, że zarówno tradycyjne papierosy, jak i e-papierosy, są źródłem substancji zdolnych do modulowania EMT poprzez różnorodne mechanizmy molekularne. Zjawisko to stanowi istotny element patogenezy raka płuca i podkreśla potrzebę dalszych badań nad zależnością między ekspozycją na produkty tytoniowe a progresją procesów nowotworowych.

Brakuje również danych dotyczących wpływu odstawienia e-papierosów u pacjentów z rakiem płuca, co podkreśla konieczność przeprowadzenia badań *in vivo* oraz badań klinicznych, które pozwolą uzupełnić tę lukę w wiedzy. Co istotne, EMT oraz receptory aktywujące związane z nim szlaki – w tym α7-nAChR i AhR – mogą stanowić nowe, obiecujące cele terapeutyczne w leczeniu raka płuca.

PIŚMIENNICTWO

1. Li C, Lei S, Ding L, Xu Y, Wu X, Wang H, Zhang Z, Gao T, Zhang Y, Li L (2023) Global burden and trends of lung cancer incidence and mortality. Chin Med J (English Edition) 136(13): 1583–1590
2. Zhou J, Xu Y, Liu J, Feng L, Yu J, Chen D (2024) Global burden of lung cancer in 2022 and projections to 2050: Incidence and mortality estimates from GLOBOCAN. Cancer Epidemiol 93: 102693
3. Wu J, Ma D, He S, Yang Y, Gao K, Wang J, Wei X (2025) Global, Regional, and National Burden of Lung Cancer from 1990 to 2021, and Predictions for 2040: Insights from the 2021 Global Burden of Disease Study. medRxiv
4. Wojciechowska U, Barańska K, Miklewska M, Didkowska JA (2023) Cancer incidence and mortality in Poland in 2020. Nowotwory J Oncol 73(3): 129–145
5. Stencel NJ, Szczot J, Konczewska L, Skrzypczak KO, Stuczyński SK, Krala-Szkaradowska M (2024) Nowy labirynt danych w świecie raka płuca: aktualna epidemiologia, metody profilaktyki, przyszłe kierunki--przegląd literatury. Forum MedRodz 18(2): 74-83
6. Pacjent.gov.pl (2025) Epidemiologia raka płuca.
7. Li Y, Hecht SS (2022) Carcinogenic components of tobacco and tobacco smoke: A 2022 update. Food Chem Toxicol 165: 113179
8. Sleiman M, Logue JM, Montesinos VN, Russell ML, Litter MI, Gundel LA, Destaillats H (2016) Emissions from Electronic Cigarettes: Key Parameters Affecting the Release of Harmful Chemicals. Environ SciTechnol 50(17): 9644-9651
9. De Las Rivas J, Brozovic A, Izraely S, Casas-Pais A, Witz IP, Figueroa A (2021) Cancer drug resistance induced by EMT: novel therapeutic strategies. ArchToxicol 95(7): 2279-2297
10. Otsuki Y, Saya H, Arima Y (2018) Prospects for new lung cancer treatments that target EMT signaling. Dev Dyn 247(3): 462-472
11. Alqithami SM, Machwe A, Orren DK (2024) Cigarette Smoke-Induced Epithelial-to-Mesenchymal Transition: Insights into Cellular Mechanisms and Signaling Pathways. Cells 13(17): 1453
12. Ribatti D, Tamma R, Annese T (2020) Epithelial-Mesenchymal Transition in Cancer: A Historical Overview. TranslOncol 13(6): 100773
13. Ghafoor S, Garcia E, Jay DJ, Persad S (2025) Molecular Mechanisms Regulating Epithelial Mesenchymal Transition (EMT) to Promote Cancer Progression. Int J Mol Sci 26(9): 4364
14. Vu T, Jin L, Datta PK (2016) Effect of Cigarette Smoking on Epithelial to Mesenchymal Transition (EMT) in Lung Cancer. J Clin Med 5(4): 44
15. Akhmetkaliyev A, Alibrahim N, Shafiee D, Tulchinsky E (2023) EMT/MET plasticity in cancer and Go-or-Grow decisions in quiescence: the two sides of the same coin? Mol Cancer 22(1): 90
16. Chanvorachote P, Petsri K, Thongsom S (2022) Epithelial to Mesenchymal Transition in Lung Cancer: Potential EMT-Targeting Natural Product-derived Compounds. Anticancer Res 42(9): 4237-4246
17. Bernardo A, Díaz-Valdivia N, Fernández-Nogueira P, Alcaraz J (2025) Stromagenesis and cancer associated fibroblast heterogeneity in primary tumors and metastasis: Focus in non small cell lung cancer. FEBS Open Bio 5(10): 1599–1617
18. Ye Y, Yu S, Guo T, Zhang S, Shen X, Han G (2024) Epithelial–Mesenchymal Transition in Non-Small Cell Lung Cancer Management: Opportunities and Challenges. Biomolecules 14(12): 1523
19. Nam MW, Kim CW, Choi KC (2022) Epithelial-Mesenchymal Transition-Inducing Factors Involved in the Progression of Lung Cancers. BiomolTher 30(3): 213-220

20. Younis NM, Ahmed MM, Ibrahim RM (2025) The Relationship Between Lung Cancer and Addiction: A Comprehensive Review. CurrClin Med Educ 3(06): 1-10

21. Haussmann HJ, Fariss MW (2016) Comprehensive review of epidemiological and animal studies on the potential carcinogenic effects of nicotine per se. Crit Rev Toxicol 46(8): 701-734

22. Effah F, Taiwo B, Baines D, Bailey A, Marczylo T (2022) Pulmonary effects of e-liquid flavors: a systematic review. J ToxicolEnvironHealth B CritRev 25(7): 343-371

23. Tayyarah R, Long GA (2014) Comparison of select analytes in aerosol from e-cigarettes with smoke from conventional cigarettes and with ambient air. RegulToxicolPharmacol 70(3): 704-710

24. Zhang C, Ding XP, Zhao QN, Yang XJ, An SM, Wang H, Xu L, Zhu L, Chen HZ (2016) Role of α7-nicotinic acetylcholine receptor in nicotine-induced invasion and epithelial-to-mesenchymal transition in human non-small cell lung cancer cells. Oncotarget 7(37): 59199-59208

25. Chmielewski J (2020) Substancje chemiczne w e-papierosach i ich wpływ na zdrowie człowieka. PrzemChem 1(5): 114-118

26. Lerner CA, Sundar IK, Yao H, Gerloff J, Ossip DJ, McIntosh S, Robinson R, Rahman I (2015) Vapors produced by electronic cigarettes and e-juices with flavorings induce toxicity, oxidative stress, and inflammatory response in lung epithelial cells and in mouse lung. PLoS One 10(2): e0116732

27. IARC (2025) Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1–139

28. Sahu R, Shah K, Malviya R, Paliwal D, Sagar S, Singh S, Prajapati BG, Bhattacharya S (2023) E-Cigarettes and Associated Health Risks: An Update on Cancer Potential. Adv Respir Med 91(6): 516-531

29. Clapp PW, Lavrich KS, van Heusden CA, Lazarowski ER, Carson JL, Jaspers I (2019) Cinnamaldehyde in flavored e-cigarette liquids temporarily suppresses bronchial epithelial cell ciliary motility by dysregulation of mitochondrial function. Am J Physiol Lung Cell MolPhysiol 316(3): L470-L486

30. Sachdeva J, Karunananthan A, Shi J, Dai W, Kleinman MT, Herman D, Kloner RA (2023) Flavoring Agents in E-cigarette Liquids: A Comprehensive Analysis of Multiple Health Risks. Cureus 15(11): e48995

31. Sherwood CL, Boitano S (2016) Airway epithelial cell exposure to distinct e-cigarette liquid flavorings reveals toxicity thresholds and activation of CFTR by the chocolate flavoring 2,5-dimethypyrazine. Respir Res 17(1): 57

32. Cunningham A, McAdam K, Thissen J, Digard H (2020) The Evolving E-cigarette: Comparative Chemical Analyses of E-cigarette Vapor and Cigarette Smoke. Front Toxicol 2: 586674

33. Pappas RS, Fresquez MR, Martone N, Watson CH (2014) Toxic metal concentrations in mainstream smoke from cigarettes available in the USA. J Anal Toxicol 38(4): 204-21

34. Goniewicz ML, Knysak J, Gawron M, Kosmider L, Sobczak A, Kurek J, Prokopowicz A, Jablonska-Czapla M, Rosik-Dulewska C, Havel C, Jacob P 3rd, Benowitz N (2014) Levels of selected carcinogens and toxicants in vapour from electronic cigarettes. Tob Control 23(2): 133-139

35. Lee HM, Kim SM, Choi KC (2017) Treatment of Human Placental Choriocarcinoma Cells with Formaldehyde and Benzene Induced Growth and Epithelial Mesenchymal Transition via Induction of an Antioxidant Effect. Int J Environ Res Public Health 14(8): 854

36. Kosmider L, Sobczak A, Fik M, Knysak J, Zaciera M, Kurek J, Goniewicz ML (2014) Carbonyl compounds in electronic cigarette vapors: effects of nicotine solvent and battery output voltage. Nicotine Tob Res 16(10): 1319-1326

37. CzégényZs, Bozi J, Sebestyén Z, Blazsó M, Jakab E, Barta-Rajnai E, Forster M, Nicol J, McAdam KG, Liu C (2016) Thermal behaviour of selected flavour ingredients and additives under simulated cigarette combustion and tobacco heating conditions. J Anal Appl Pyrolysis 121: 190-204

38. Goel R, Bitzer Z, Reilly SM, Trushin N, Foulds J, Muscat J, Liao J, Elias RJ, Richie JP Jr (2017) Variation in Free Radical Yields from U.S. Marketed Cigarettes. Chem Res Toxicol 30(4): 1038-1045

39. Wadkin R, Allen C, Fearon IM (2023) E□cigarette puffing topography: The importance of assessing user behaviour to inform emissions testing. Drug Test Anal 15(10): 1222–1232

40. Cheng WL, Chen KY, Lee KY, Feng PH, Wu SM (2020) Nicotinic--nAChR signaling mediates drug resistance in lung cancer. J Cancer 11(5): 1125–1140

41. Wu ZQ, Li XY, Hu CY, Ford M, Kleer CG, Weiss SJ (2012) Canonical Wnt signaling regulates Slug activity and links epithelial–mesenchymal transition with epigenetic BRCA1 repression. Proc NatlAcadSci USA 109(41): 16654-16659

42. Tsai CH, Li CH, Cheng YW, Lee CC, Liao PL, Lin CH, Huang SH, Kang JJ (2017) The inhibition of lung cancer cell migration by AhR--regulated autophagy. Sci Rep 7: 41927

43. Ma M, Shi F, Zhai R, Wang H, Li K, Xu C, Yao W, Zhou F (2021) TGF-β promote epithelial-mesenchymal transition via NFκB/NOX4/ROS signal pathway in lung cancer cells. MolBiol Rep 48(3): 2365-2375

44. Wu Q, Yao B, Li N, Ma L, Deng Y, Yang Y, Zeng C, Yang Z, Liu B (2017) Nrf2 mediates redox adaptation in NOX4-overexpressed non--small cell lung cancer cells. Exp Cell Res 352(2): 245-254

45. Gong S, Wang S, Shao M (2022) NADPH Oxidase 4: A Potential Therapeutic Target of Malignancy. Front Cell Dev Biol 10: 884412

46. Kikuchi H, Sakakibara-Konishi J, Furuta M, Yokouchi H, Nishihara H, Yamazaki S, Uramoto H, Tanaka F, Harada M, Akie K, Sugaya F, Fujita Y, Takamura K, Kojima T, Harada T, Higuchi M, Honjo O, Minami Y, Watanabe N, Oizumi S, Suzuki H, Ishida T, Dosaka-Akita H, Isobe H, Munakata M, Nishimura M (2017) Expression of Notch1 and Numb in small cell lung cancer. Oncotarget 8(6): 10348–10358

47. Zhang L, Cao Y, Guo X, Wang X, Han X, Kanwore K, Hong X, Zhou H ,Gao D (2023) Hypoxia-induced ROS aggravate tumor progression through HIF-1α-SERPINE1 signaling in glioblastoma. J ZhejiangUnivSci B 24(1): 32-49

48. Wan J, Wu W (2016) Hyperthermia induced HIF-1a expression of lung cancer through AKT and ERK signaling pathways. J ExpClinCancer Res 35(1): 119

49. Yu M, Chen F, Wang H, Fu Q, Yan L, Chen Z, Li H, Jia M, Yang D, Hua X, Shen T, Zhu Q, Zhou C (2023) Endoplasmicreticulumstressmediatesnickelchloride-inducedepithelial-mesenchymaltransition and migration of humanlungcancer A549 cellsthrough Smad2/3 and p38 MAPK activation. EcotoxicolEnvironSaf 249: 114398

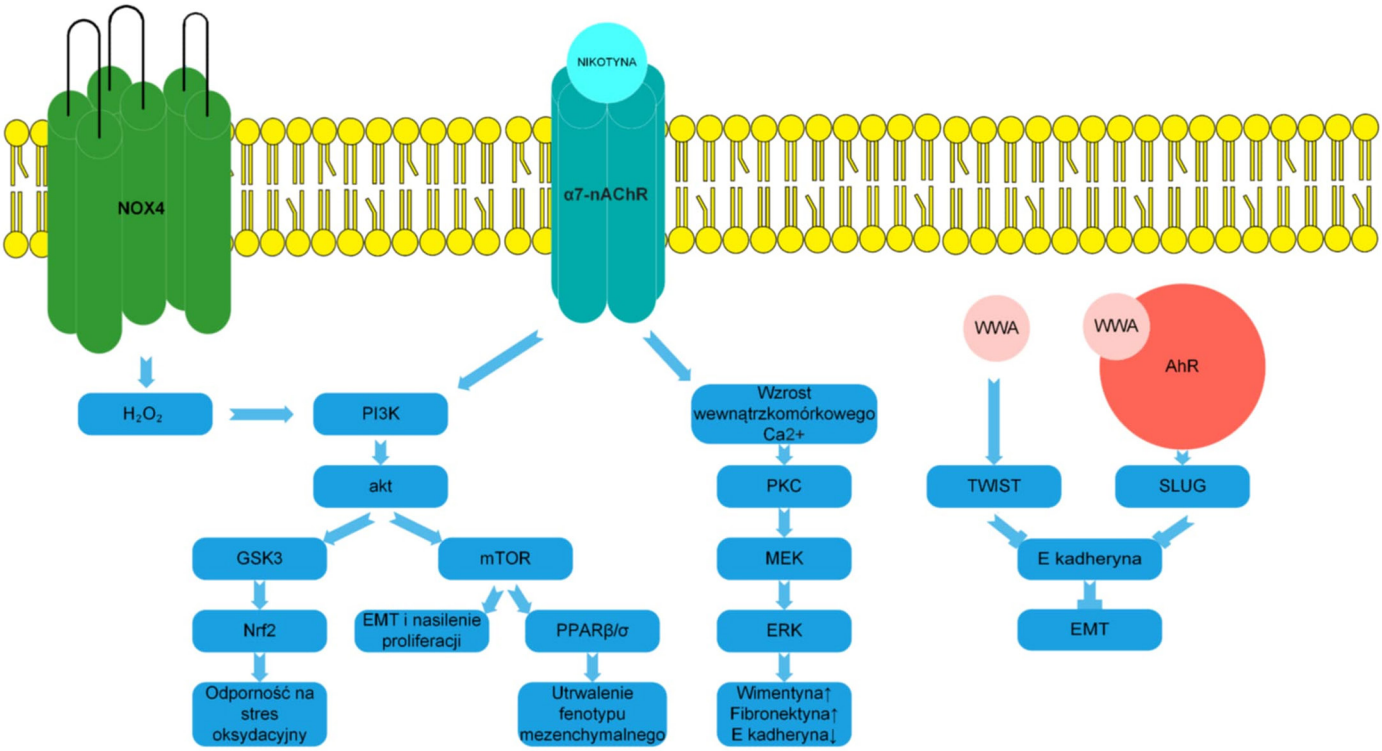
50. Valverde M, Rosales-Cruz P, Torrejon-Gonzalez E, Ponce-Ortiz A, Rodriguez-Sastre MA, Rojas E (2024) Epithelial-MesenchymalTransitionInduced by a Metal Mixture in LiverCells With AntioxidantBarrierDecreased. *OxidMed Cell Longev* 2024: 6983256

The impact of components of traditional and electronic cigarettes on the induction of the EMT process in lung cancer

Weronika Wójtowicz[1,2,#], Katarzyna Raszczok[2,#], Mateusz Wierzbinka[2,#], Karolina Jankowska[2,#,✉], Karolina Bajdak-Rusinek[3,✉], Kamil Barański[4]

[1]Doctoral School of the Medical University of Silesia in Katowice, Department of Epidemiology, Medical University of Silesia in Katowice
[2]Student Scientific Circle at the Department of Molecular Biology, Medical University of Silesia in Katowice; Medical Students, Medical University of Silesia in Katowice
[3]Department of Molecular Biology, Medical University of Silesia in Katowice
[4]Department of Epidemiology, Medical University of Silesia in Katowice

✉corresponding authors: kbajdak-rusinek@sum.edu.pl, karolina.jankowska460@gmail.com
[#]These authors contributed equally to this work.

Keywords: lung cancer; epithelial–mesenchymal transition (EMT); nicotine; e-cigarettes; reactive oxygen species (ROS)

Lung cancer remains one of the leading causes of cancer-related mortality worldwide and is strongly associated with tobacco smoke exposure. In recent years, electronic cigarettes have gained popularity as seemingly safer alternatives to conventional cigarettes; however, their impact on tumor biology remains controversial. A central process in lung cancer progression is the epithelial–mesenchymal transition (EMT), which promotes cellular invasion, migration, and therapy resistance. This review summarizes current evidence on how nicotine, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), carbonyl compounds, and reactive oxygen species (ROS) modulate EMT through key signaling pathways, including PI3K/AKT, MAPK/ERK, Wnt/β-catenin, Notch, and HIF-1α. Moreover, it discusses the role of thermal processes during tobacco combustion and e-liquid heating in generating carcinogenic by-products. Emerging data indicate that both traditional and electronic cigarettes release bioactive agents capable of inducing EMT, thereby contributing to lung cancer pathogenesis and revealing potential therapeutic targets.