

Identyfikacja i charakterystyka funkcjonalna kolistych RNA w glejaku

mgr Żaneta Zarębska

Koliste RNA (circRNA), jedne z najbardziej znanych i obiecujących typów niekodujących RNA są jednym z istotnych czynników rozwoju wielu chorób, szczególnie powstawania nowotworów. CircRNA są powiązane z rozwojem nowotworów mózgu ze względu na ich obfitość, zwłaszcza w ludzkim mózgu, a następnie dużą różnorodność oraz poziom ekspresji charakteryzujący się wysoką specyficznością tkankową i rozwojową. Kluczową cechą circRNA, która mogłaby uzasadniać ich znaczenie w powstawaniu nowotworów, jest także ich charakterystyczna, kowalencyjnie zamknięta struktura pozbawiona polarności 5'-3', pozwalająca im pełnić swoje funkcje biologiczne poprzez wiązanie się z wieloma typami cząsteczek, w tym RNA, DNA i białkami.

Pomimo szeroko zakrojonych badań glejak wielopostaciowy jest wysoce złośliwą postacią guza mózgu, która pozostaje poważnym wyzwaniem dla klinicystów i naukowców. Niezależnie od ostatnich odkryć dotyczących genetyki GBM, konwencjonalne metody leczenia glejaka obejmują głównie chirurgiczną resekcję guza, a następnie radioterapię oraz chemioterapię opartą na temozolomidzie. Przedstawione podejście terapeutyczne w wielu przypadkach okazuje się nieskuteczne ze względu na powszechnie obserwowaną oporność na leczenie, która ostatecznie prowadzi do nawrotu nowotworu. Kilka kluczowych cech GBM znacząco utrudnia odkrycie i rozwój skutecznej terapii GBM. Jedną z głównych przyczyn jest wysoka heterogenność GBM, opisana na poziomie komórkowym, molekularnym, histologicznym i klinicznym, co może prowadzić do zróżnicowanych reakcji na środki terapeutyczne i niepowodzenie terapii celowanych. Ponadto często podaje się, że niewielka populacja komórek macierzystych glejaka (GSC) jest odpowiedzialna za wzrost, progresję i przerzuty nowotworu. Co więcej, mikrośrodowisko nowotworu (TME), wysoce zróżnicowany zespół komórek nowotworowych otoczonych przez kilka typów komórek nienowotworowych i niekomórkowe składniki macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM), jest kluczowym elementem strukturalnym, którego reorganizacja, promuje inwazję nowotworu i występowanie przerzutów. Ponadto, w wyniku wzajemnych interakcji typu komórka-komórka i komórka ECM, komórki zrębowe tracą swoje funkcjonalne fenotypy, co wspiera wzrost i inwazję komórek nowotworowych. Nabycie inwazyjnego fenotypu w tkance guza litego jest często powiązane z procesem przejścia

nabłonkowo-mezenchymalnego (EMT), charakteryzującego się utratą adhezji komórkowej oraz wzrostem potencjału migracyjnego i inwazyjnego komórek nowotworowych. Ponieważ rozwój nowotworu i jego progresja są procesami niezwykle złożonymi, prowadzącymi do dużej niestabilności genomu i licznych rearanżacji, nadal 15 niezbędne są zaawansowane badania molekularne, aby kompleksowo zrozumieć leżące u ich podstaw mechanizmy.

Z wymienionych względów celem przedłożonej dysertacji jest analiza roli circRNA w procesie rozwoju i inwazji GBM. Pierwsza część rozprawy poświęcona jest dogłębnej analizie funkcji circCLIP2, ponieważ w doniesieniach literaturowych podkreślone zostało znaczenie circCLIP2 w rozwoju i progresji GBM. Zastosowano testy funkcjonalne, aby wykazać potencjalny udział circCLIP2 w proliferacji, migracji i inwazji komórek GBM, które potencjalnie mogą być również powiązane z przejściem epithelialno-mezenchymalnym i obecnością populacji komórek macierzystych glejaka. Druga część pracy poświęcona została identyfikacji circRNA wykazujących odbiegające od normy wzorce ekspresji w pierwotnym i wtórnym glejaku wykorzystując metodę sekwencjonowania RNA tkanek GBM, które analizowano równolegle z analizą funkcjonalną circCLIP2. Ponadto dokonano również klasyfikacji tkanek GBM poddanych sekwencjonowaniu RNA na cztery opisane w literaturze podtypy glejaka, co umożliwiło dalszą analizę profilu ekspresji circRNA w zidentyfikowanych podtypach. Ostatnia część badań została poświęcona opracowaniu i charakterystyce złożonych modeli GBM. W trakcie przeprowadzonych badań wygenerowano dwa modele GBM – organoid GBM pochodzący z tkanki pacjenta oraz asembloid, który stanowi nowoczesny model inwazji glejaka w zdrową tkankę mózgową. Model asembloidu składa się z organoidu GBM i organoidu mózgowego hodowanych jako ko-kultury do czasu uformowania asembloidu oraz ustalenia wczesnych i późnych zjawisk związanych z inwazją komórek nowotworowych. Pomimo stworzenia nowatorskich modeli badawczych, celem było wygenerowanie substytutu powszechnie stosowanych dwuwymiarowych linii komórkowych w badaniach związanych z procesami inwazji nowotworów. Co więcej, model ten mógłby potencjalnie służyć jako platforma diagnostyczna do badań przesiewowych w zakresie terapii przeciwnowotworowych.