

Identyfikacja i charakterystyka regulatorowych RNA (sdRNA oraz snoRNA) w glejaku wielopostaciowym – ich udział w rozwoju i progresji nowotworu

Streszczenie

Glejak wielopostaciowy (GBM) to najbardziej złośliwy nowotwór mózgu u dorosłych. Ze względu na wysoką oporność tego nowotworu na leczenie, mediana przeżycia pacjentów wciąż pozostaje niska, a jego wznowa jest niemal pewna. Z tego względu, kluczowe znaczenie ma zrozumienie mechanizmów patofizjologicznych leżących u podłoża tego nowotworu. Jedną z głównych przyczyn agresywnego charakteru GBM jest wysoka heterogenność, spowodowana obecnością zróżnicowanych populacji komórek nowotworowych, w tym komórek macierzystych GBM (GSC). GSC odgrywają kluczową rolę w rozwoju guza, jego różnicowaniu i mechanizmach odpowiedzialnych za inwazję. Wraz z progresją, GBM nabywa oporności na leczenie, co ma ścisły związek z mikrośrodowiskiem guza, które wykazuje właściwości immunosupresyjne, pomagając komórkom nowotworowym uniknąć odpowiedzi układu odpornościowego.

W celu poszukiwania nowych strategii diagnostycznych, a także terapeutycznych GBM, coraz więcej badań skupia się na poznaniu roli niekodujących RNA w rozwoju i progresji tego nowotworu. Doniesienia dotyczące małych jąderkowych RNA (snoRNA), a także pochodzących z nich cząsteczek sdRNA w GBM są nieliczne. Z tego względu, niniejsza rozprawa doktorska obejmuje badania skupiające się na identyfikacji i charakterystyce tych cząsteczek w GBM. Analiza wyników sekwencjonowania, a także przeprowadzona walidacja pozwoliły na selekcję kandydatów sdRNA potencjalnie zaangażowanych w rozwój tego nowotworu. Dalsza ocena poziomu wybranych kandydatów w warunkach hipoksji, a także frakcji GSC, sugeruje odmienny udział badanych cząsteczek w procesie nowotworzenia. Uzyskane wyniki potwierdziły również obecność badanych cząsteczek w pęcherzykach zewnątrzkomórkowych (EV), co wskazywać może na ich potencjalną rolę w komunikacji międzykomórkowej. Z kolei immunoprecypitacja białek wiążących wybrane sdRNA, jak i snoRNA pozwoliła na wstępną ocenę ich mechanizmu działania.

Biorąc pod uwagę, że biogeneza cząsteczek sdRNA nie jest znana, analiza struktur drugorzędowych wybranych snoRNA pozwoliła na ocenę lokalizacji obecnych w nich sekwencji sdRNA. Natomiast analizy oparte o zmiany poziomu białka FUS, a także immunoprecypitację białek zaangażowanych w przetwarzanie prekursorowych snoRNA, pozwoliły określić ich potencjalny udział w powstawaniu sdRNA.

Nieodzownym elementem badań nad nowotworami staje się również poszukiwanie biomarkerów, szczególnie tych obecnych w plazmie krwi pacjentów. W niniejszej pracy potwierdzono obecność badanych cząsteczek w plazmie pochodzącej od pacjentów ze zdiagnozowanym GBM, sugerując ich udział we wznowie nowotworu.

Przedstawione wyniki potwierdziły, że poziom zdecydowanej większości zidentyfikowanych cząsteczek sdRNA, jak i ich prekursorowych snoRNA jest podwyższony w GBM, co sugeruje ich udział w procesie nowotworzenia. Wstępna analiza pozwoliła również na ocenę potencjalnego mechanizmu powstawania wybranych sdRNA, a także ich potencjalnej roli w tym nowotworze. Wyniki przedstawione w niniejszej pracy pozwalają lepiej zrozumieć mechanizmy molekularne odpowiedzialne za rozwój i progresję GBM w oparciu o nowe klasy regulatorowych RNA – snoRNA i powstające z nich sdRNA, co w przyszłości może pomóc w opracowaniu skutecznych metod leczenia, a także lepszej diagnostyki pacjentów.