

Wpływ deacetylazy SIRT1 oraz zmian epigenetycznych na aktywność biologiczną witaminy D wobec komórek raka płuca

Witamina D jest znana obecnie, nie tylko z regulowania poziomu wapnia w organizmie, ale także z regulacji odpowiedzi immunologicznej i aktywności przeciwnowotworowej. Witamina D za pomocą receptora VDR reguluje ekspresję wielu genów, w tym genów odpowiedzialnych za regulację proliferacji komórkowej, różnicowania, angiogenezy i aktywności immunomodulacyjnej zarówno we wrodzonej, jak i nabytej odpowiedzi immunologicznej. Wiele badań wykazało, że witamina D wykazuje działanie antyproliferacyjne przeciwko wielu rodzajom komórek nowotworowych, a dane z badań epidemiologicznych sugerują, że niski poziom witaminy D jest skorelowany ze zwiększonym ryzykiem raka. Jednak nie wszystkie typy komórek nowotworowych są wrażliwe na działanie przeciwnowotworowe witaminy D.

Transkrypcja genów na poziomie genomu jest regulowana przez metylację DNA i modyfikacje histonów, które niejako decydują, które geny są aktywowane, a które geny są represjonowane. Na przykład acetylacja histonów umożliwia otwarcie struktury chromatyny i aktywację transkrypcji genu. Poziom acetylacji w warunkach prawidłowych wynikają z równowagi pomiędzy aktywnością przeciwstawnie działających enzymów: acetylotransferaz histonowych (HAT) i deacetylaz histonowych (HDAC). W ostatnich latach rola deacetylaz histonowych w rozwoju raka zyskuje duże zainteresowanie. SIRT1 jest zależną od NAD deacetylazą histonową odpowiedzialną za deacetylację histonów H3K9Ac i H4K16Ac. Według danych z piśmiennictwa spadek aktywności SIRT1 wydaje się dominować w przypadku gruczolakoraka płuca związanego z paleniem tytoniu. Wykazano, że dym papierosowy, główny czynnik etiologiczny raka płuca, powoduje zaburzenie równowagi acetylacji/deacetylacji histonów i prawdopodobnie białek niehistonowych.

Istnieją dwie główne mutacje genów odpowiedzialnych za raka płuca: *EGFR* i *KRAS*, które są skorelowane z historią palenia tytoniu u pacjentów. Mutacje *KRAS* są częstsze u palaczy, podczas gdy mutacje *EGFR* występują u niepalących wcześniej chorych na raka płuca. Wykazano, że zmutowane komórki raka płuca z mutacją *EGFR* są bardziej wrażliwe na antyproliferacyjną aktywność witaminy D w porównaniu do komórek z mutacją *KRAS*. Na podstawie tych danych wysnuliśmy hipotezę, że być może istnieje inny status acetylacji / deacetylacji histonów i białek niehistonowych w komórkach z mutacją *EGFR* a komórkach raka płuca z mutacją *KRAS*, co z kolei może mieć dalej wpływ na aktywność biologiczną witaminy D w tych komórkach.

W naszych badaniach zamierzamy przetestować antyproliferacyjną aktywność kalcytriolu w połączeniu z aktywatorem lub inhibitorem deacetylazy SIRT1 wobec komórek raka płuc, które różnią się statusem mutacji *EGFR* i *KRAS*, a następnie planujemy przeanalizować różnice w ekspresji genów za pomocą analizy RNA-seq po aktywacji lub hamowaniu SIRT1 w tych komórkach i inkubacji z kalcytriolem. W oparciu o wyniki z poprzednich etapów będziemy szukać różnic w ekspresji genów zależnych od aktywności witaminy D i / lub SIRT1, różnic w wiązaniu VDR z DNA w komórkach z mutacjami *EGFR* i *KRAS* z lub bez wyciszania SIRT1 traktowanych lub nie kalcytriolem. Planujemy również przeanalizować wpływ aktywności SIRT1 na zdolność VDR do wiązania się z receptorem retinoidowym RXR, korepresorem NCoR1 lub koaktywatorem NCoA1 transkrypcji genów, oraz ocenie podlegać będzie lokalizacja tworzenia kompleksu VDR-SIRT1 w komórce (jądro komórkowe/cytoplazma).

Badania w tym projekcie umożliwią ocenę wpływu wybranych zmian epigenetycznych na zróżnicowaną wrażliwość komórek raka płuca, o różnym statusie mutacji *EGFR* i *KRAS*, na przeciwnowotworowe działanie witaminy D. Zrozumienie mechanizmów epigenetycznych wpływających na aktywność przeciwnowotworową witaminy D w raku płuca stanowiłyby uzasadnienie dalszych badań mających na celu poszukiwanie nowych terapii opartych na oddziaływaniu na zmiany epigenetyczne i suplementacji witaminą D w leczeniu i/lub w profilaktyce raka płuca. Dodatkowo, badania prezentowanego projektu mogą przyczynić się do kolejnego kroku w kierunku poszerzenia naszej wiedzy na temat tych dwóch molekularnych podtypów raka płuca, tj. z mutacją *EGFR* i *KRAS*.