

Regulacja dostępności chromatyny w niedotlenionym mikrośrodowisku glejaka

Cenny materiał genetyczny, który jest ukryty w każdej komórce naszego ciała, jest starannie owinięty wokół specjalnych jednostek białkowych zwanych histonami, które razem składają się na chromatynę. Bardzo ważna jest gęstość występowania histonów w chromatynie, ponieważ decyduje o tym, które geny są dostępne do aktywowania, a co za tym idzie, jak będą się zachowywać nasze komórki. Im większe jest zagęszczenie chromatyny histonami - tym mniej dostępny i aktywny jest dany gen. Okazuje się, że w komórkach nowotworowych, dostępność pewnych fragmentów chromatyny zmienia się w porównaniu do odpowiednich fragmentów w komórkach zdrowych. Poprzez poznawanie dostępności chromatyny, możemy lepiej zrozumieć mechanizmy kierujące komórkami rakowymi i potencjalnie odkryć nowe terapie. Najnowsze osiągnięcia technologiczne dają możliwość rejestrowania zmian w dostępności chromatyny z ogromną rozdzielczością i w każdej mierzonej komórce, co przybliży perspektywę lepszego zrozumienia chorób.

W obecnym projekcie skupiamy się na zmianach chromatyny w glejaku, który jest złośliwym i najczęstszym pierwotnym guzem mózgu. Niestety, pomimo długich starań, wciąż brakuje nam skutecznego leku na glejaka. Statystycznie, średnia długość życia pacjenta po zdiagnozowaniu wynosi zaledwie nieco ponad rok. Istnieje kilka powodów, dla których glejak jest trudny w wyleczeniu. Po pierwsze, guz ten jest bardzo inwazyjny, co oznacza, że rozprzestrzenia się do otaczającego mózgu, uniemożliwiając całkowite jego usunięcie podczas operacji, co prowadzi do nieuniknionego odrastania guza. Po drugie, różnorodne normalne komórki zasiedlają guza i wspierają jego rozwój. Na przykład, komórki mikrogleju, które należą do wrodzonego układu odpornościowego zlokalizowane są w mózgu i pośredniczą w odpowiedziach na różne stresy lub stany zapalne. Jednak po przemieszczeniu się do glejaka, mikroglej może stanowić aż do 30% masy guza i wydziela białka pozakomórkowe, które wspierają wzrost guza. Ponadto, warunki fizyczne, które rozwijają się w nowotworach, na przykład utrata tlenu (hipoksja), mogą promować komunikacje pomiędzy komórkami nowotworowymi a mikroglejem i dodatkowo wspierać ekspansję guza. Bardzo ważne jest poznanie reakcji komórkowych na hipoksję, ponieważ dane kliniczne pokazują, że im większe jest niedotlenienie guza, tym mniejsze są szanse na przeżycie pacjenta.

Celem naszego projektu jest zrozumienie zmian w dostępności chromatyny w mikrogleju i komórkach nowotworowych, w odpowiedzi na hipoksję. Zbadamy aktywność poszczególnych genów podczas hipoksji i jak wpływają one na oddziaływania pomiędzy mikroglejem a komórkami nowotworowymi w mikrośrodowisku glejaka.

W naszej pracy wykorzystamy guzy glejaka wyhodowane w mózgach myszy, aby najdokładniej odwzorować naturalne środowisko glejaka z obecnymi komórkami układu odpornościowego. Wykorzystamy najnowocześniejszą technologię o nazwie Pi-ATAC, która jednocześnie pozwala zmierzyć markery określonych typów komórek obecnych w nowotworze (na przykład komórki mikrogleju i komórki nowotworowe) oraz dostępność chromatyny w każdej oznakowanej komórce. Ponadto wykorzystamy markery do wykrywania niedotlenienia w tych komórkach, a zatem będziemy w stanie odróżnić zmiany chromatyny w mikrogleju i komórkach nowotworowych, które były narażone na hipoksję. Gdy poznamy zmiany chromatyny w beztlenowym środowisku glejaka, przejdziemy do odwzorowania tych warunków w komorze hipoksji. Badania w guzie piersi metoda Pi-ATAC wykazały, iż profile chromatyny w hipoksji wykryte w guzie *in vivo* w dużej mierze pokrywają się z tymi uzyskanymi na wskutek hodowli w komorze hipoksji. Dlatego też spodziewamy się zidentyfikować zmiany w chromatynie na wskutek hipoksji również w glejaku i porównać jak zależą one od interakcji z komórkami mikrogleju. Naszego modelu laboratoryjnego w komorze hipoksji wykorzystamy do zbadania właściwości chromatyny w hodowlach komórek mikrogleju i glejaka, a w szczególności występowania wariantów histonów i ich lokalizacji w chromatynie w odpowiedzi na niedotlenienie, jak też dodatkowych modyfikacji histonów. Zmierzymy również ekspresję genów mikrogleju i glejaka hodowanych razem w warunkach hipoksji. Po zidentyfikowaniu zmian w chromatynie specyficznie w komórkach mikrogleju lub glejaku w odpowiedzi na niedotlenienie, będziemy dążyć do ich walidacji w tkankach nowotworowych myszy i człowieka, przy użyciu metod znakowania immunologicznego.

Podsumowując, nasz projekt scharakteryzuje zmiany chromatyny w mikrogleju i glejaku pod wpływem stresu hipoksji i zidentyfikuje potencjalne nowe markery, które mogłyby zostać wykorzystane do wykrywania aktywności tych komórek w naturalnym mikrośrodowisku hipoksyjnym w glejaku. W rezultacie możemy odkryć nowe mechanizmy o potencjale terapeutycznym do zwalczania glejaka.