

## POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU

### Wykorzystanie związków małowcząsteczkowych w epigenetycznej terapii złośliwych glejaków mózgu

Glejakami stanowią zdecydowaną większość pierwotnych złośliwych guzów mózgu. Cechują się one agresywnym, dynamicznym wzrostem, przez co pomimo kompleksowej terapii (operacyjne usunięcie guza, radio- i chemioterapia) rokowanie w przypadku tych nowotworów pozostaje bardzo złe. Dla najbardziej agresywnego z nich, glioblastoma (GBM), średnia długość życia wynosi ok. 12 miesięcy od rozpoznania. Ze względu na naciekanie przez guza otaczającego mózgu najbardziej skutecznym leczeniem mogłaby być chemioterapia. Jednak jej zastosowanie jest ograniczone ze względu na barierę krew-mózg (BBB), która utrudnia penetrację leków do mózgu. W związku z tym obserwuje się oporność na stosowane chemioterapeutyki oraz częste i szybkie nawroty choroby. Dlatego istnieje paląca potrzeba opracowania nowych leków, które w znaczący sposób wpłynęłyby na efektywność leczenia glejaków.

Jest rzeczą powszechnie wiadomą, że jedną z przyczyn nowotworzenia jest zmiana potencjału oksydacyjno-redukcyjnego komórki i nadprodukcja reaktywnych form tlenu (ROS). Prowadzi to do stresu komórkowego i licznych uszkodzeń składników komórki, m.in. DNA. W wyniku modyfikacji DNA dochodzi do zaburzeń na poziomie epigenetycznym, które reagują na zmiany środowiskowe zdecydowanie szybciej i rozleglej niż mechanizmy genetyczne, dlatego ten poziom obserwacji wydaje się najbardziej obiecujący eksplanacyjnie w tak złożonym etiologicznie zjawisku jak karcynogeneza. W związku z powyższym proces nowotworzenia może być monitorowany przez dwa markery: metylacje DNA (5-metylocytozyna, m<sup>5</sup>C) – główny znacznik epigenetyczny oraz 8-hydroksyguanina (8-OH-dG) - marker uszkodzenia oksydacyjnego komórki. Metylacja DNA funkcjonuje jako „przełącznik” aktywujący lub hamujący ekspresję genów. Zwiększona metylacja (hipermetylacja) regionów promotorowych genów prowadzi do zahamowania ich funkcji, podobnie jak w przypadku zwykłych mutacji genetycznych. Ale w nowotworach szczególnie ważna jest również globalna hipometylacja genomu, która prowadzi do niekontrolowanej ekspresji genów, w tym m.in. onkogenów. Zmniejszenie zawartości 5-metylocytozyny w DNA następuje w wyniku stresu oksydacyjnego. Zwiększona zawartość 8-OH-dG w DNA jest niezależnym i bezpośrednim markerem oksydacyjnego uszkodzenia kwasów nukleinowych.

Zauważono, że niektóre leki, takie jak kwas walproinowy (VPA), deksametazon (DEX), metformina (MET), kannabidiol (CBD), tetrahydrokannabinol (THC), oprócz swoich podstawowych zastosowań, poprawiają również przeżycie u pacjentów chorujących na glejaka. Jednakże mechanizm ich pozytywnego wpływu na leczenie tych guzów mózgu pozostaje nieznany.

Celem niniejszego projektu jest analiza wpływu VPA, DEX, MET, CBD i THC na zmiany epigenetyczne w DNA i próba wyjaśnienia ich pozytywnego działania na poziomie regulacji ekspresji genomu. Zostanie to zrobione poprzez określenie całkowitej zawartości m<sup>5</sup>C w DNA komórek glejaków, a także 8-OH-dG w celu oceny procesu uszkodzania podczas chemioterapii. Wiadomo również, że podczas chemioterapii nowotworów indukowane jest powstawanie komórek macierzystych, natomiast zmiany epigenetyczne i przebudowa chromatyny są zaangażowane w tworzenie nowotworowych komórek macierzystych. Zachowania komórek macierzystych są kontrolowane poprzez aktywność demetylazy H3K27me<sub>3</sub>, co sugeruje rolę demetylazy histonowej (Jmjd3 i Utx) w aktywacji przeprogramowywania w nowotworowych komórkach macierzystych. Również te markery epigenetyczne będą przeanalizowane.

Badania będą przeprowadzone na liniach komórkowych glejaków, które zostaną poddane działaniu VPA, DEX, MET, CBD i THC w różnych stężeniach i czasach inkubacji. W wyizolowanym z komórek glejaków DNA zostanie określona całkowita zawartość **5-metylocytozyny** i **8-hydroksyguaniny**. Poprzez ocenę aktywności histonowych demetylaz określimy również poziom H3K27m<sup>3</sup>.

Proponowane przez nas podejście jest **nowe, oryginalne i wyjątkowe** na poziomie światowym, ponieważ po raz **pierwszy** proponuje kompleksową charakterystykę **epigenetyczną** wpływu leków na przebieg leczenia nowotworów w kontekście **stresu oksydacyjnego**, który jest siłą napędową karcynogenezy. Uzyskane wyniki pozwolą na optymalizację metod leczenia złośliwych nowotworów mózgu. Wyniki projektu będą miały ogromny wpływ na **neuroonkologię**, stanowiąc podstawę do dalszych badań podstawowych i klinicznych.