



STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Imię i nazwisko: Bartosz Szymczak

Tytuł rozprawy doktorskiej: **Sygnalizacja purynergiczna w komórkach glejaka – badania in vitro nad mechanizmami patologicznymi i możliwościami terapeutycznymi**

Glejaki, nowotwory układu nerwowego, wywodzące się z tkanki glejowej, należą do najagresywniejszych i najtrudniejszych w leczeniu rodzajów nowotworów. Rozsiane na obszarze centralnego układu nerwowego i często nie formujące litego guza, stanowią wyzwanie dla chirurgii. Dodatkowo, obecność bariery krew-mózg znacząco ogranicza ilość możliwych do zastosowania chemoterapeutyków, stąd też intensywnie poszukuje się alternatywnych metod terapii. Jedną z takich metod jest indukowane różnicowanie komórek nowotworowych w kierunku komórek neuralnych, które ma na celu obniżenie ich potencjału proliferacyjnego i migracyjnego.

Zewnątrzkomórkowe ATP (eATP) jest dominującym składnikiem mikrośrodowiska nowotworów i jednocześnie naturalnym ligandem dla dwóch rodzin receptorów purynergicznymi: metabotropowych P2Y oraz jonotropowych P2X. Spośród nich, najwięcej uwagi poświęca się receptorowi P2X7, a niedawne badania pozwoliły zidentyfikować dwie izoformy tego receptora występujące w organizmie ludzkim - P2X7A oraz P2X7B, biorące udział w regulacji procesów nowotworzenia oraz, zależnie od ich ekspresji w tkance nowotworowej pacjenta, decydujące o powodzeniu terapii przeciwnowotworowych. Aktywacja izoformy P2X7A prowadzi do otwarcia kanału jonowego, natomiast przy przedłużonej stymulacji przekształca się w nieselektywny por, który prowadzi do apoptotycznej śmierci komórek. Izofорма P2X7B jest pozbawiona jednej z wewnątrzkomórkowych domen - zmiana ta sprawia, że taki receptor nie posiada możliwości otwarcia poru, a jego aktywacja ma działanie pro-proliferacyjne.

Przeprowadzone badania miały na celu określenie zmian w mikrośrodowisku purynergicznym w komórkach trzech ludzkich linii komórkowych glejaka: A172, M059K i M059J, poddanych różnicowaniu indukowanemu kwasem retinowym oraz wpływu zmian w systemie sygnalizacji purynergicznej na wrażliwość komórek na chemoterapeutyki.

Analiza zmian poziomu ekspresji markerów neurogenezy potwierdziła różnicowanie badanych komórek w kierunku neuralnym. Zastosowana procedura różnicowania spowodowała obniżenie tempa proliferacji oraz migracji komórek, a także szereg zmian w systemie sygnalizacji purynergicznej. Do najważniejszych z nich należy zaliczyć wzrost poziomu ekspresji receptora P2X7 na poziomie mRNA i białka oraz zmianę stosunku ekspresji izoform P2X7A/B, a także spadek aktywności zewnątrzkomórkowych enzymów degradujących nukleotydy adeninowe. W efekcie zaobserwowaliśmy zwiększenie wrażliwości komórek na cytotoksyczny efekt eATP oraz BzATP – specyficznego agonisty receptora P2X7, oraz obniżenie tempa migracji komórek – zmiany te były odwracalnie modulowane przez aktywację



receptora P2X7. Co więcej, wykazaliśmy, że mimo wzrostu ekspresji pro-proliferacyjnej izoformy P2X7B nie dochodziło do aktywacji wewnątrzkomórkowych szlaków sygnałowych stymulujących proliferację, ponieważ to dominująca, pro-apoptyczna izoforma P2X7A decydowała o cytotoksycznym działaniu eATP.

Badania mające na celu określenie oddziaływań między elementami sygnalizacji purynergiczej oraz temozolomidem, jednym z najczęściej stosowanych chemoterapeutyków w terapii glejaka wykazały, że jednoczesne stosowanie chemoterapeutyku z ligandami receptora P2X7 znacząco wzmacnia efekt cytotoksyczny, jednocześnie badania *in silico* podparte badaniami *in vitro* wskazują, że temozolomid może działać jako antagonist receptoru P2X7.

Uzyskane wyniki wskazują, że różnicowanie kwasem retinowym w połączeniu z kontrolą sygnalizacji purynergiczej w mikrośrodowisku nowotworu mogą mieć potencjał jako terapia wspierająca do obecnie stosowanych kuracji przeciwnowotworowych. Dodatkowo, możliwość wpływania na poziom ekspresji izoform receptora P2X7 i jego warunkowa oraz miejscowo specyficzna aktywacja może w przyszłości stanowić obiecujący cel terapeutyczny.

Słowa kluczowe: glejak, sygnalizacja purynergiczna, eATP, receptor P2X7, różnicowanie, chemioterapia

14.10.2024 Szymonk Barbosa

podpis doktoranta