Nowe strategie walki z chłoniakiem: spektroskopowa identyfikacja biomarkerów metabolizmu komórek nowotworowych i jego modulacja dla zwiększenia skuteczności chemioterapii

Chłoniak rozlany z dużych komórek B (DLBCL) to **genetycznie i metabolicznie** niejednorodna grupa agresywnych nowotworów złośliwych. DLBCL jest najczęstszą postacią chłoniaka nieziarniczego u dorosłych, a standardowym leczeniem pierwszej linii jest chemioterapia oparta na schemacie R-CHOP (rytuksymab, cyklofosfamid, doksorubicyna, winkrystyna, prednizon). Niestety, u około 30-40% pacjentów dochodzi do nawrotu choroby lub braku odpowiedzi na leczenie. **Lekooporność** DLBCL jest złożonym zjawiskiem wynikającym z interakcji różnych czynników genetycznych, molekularnych i środowiskowych. **Metabolizm** nowotworowy różni się od metabolizmu zdrowych komórek, co może przyczyniać się do adaptacji DLBCL i ich zdolności do nabywania nowych mechanizmów molekularnych przezwyciężających standardowe terapie leczenia. Zaburzenia wzrostu, prowadzące do zwiększonego tempa proliferacji komórek DLBCL wymagają znaczących potrzeb energetycznych oraz zwiększonego zapotrzebowania na elementy budulcowe (tj. kwasy nukleinowe, białka i lipidy). W związku z tym zjawisko jakim jest **plastyczność metaboliczna** stało się powszechnie znaną cechę charakterystyczną nowotworów. Metabolizm substancji odżywczych w DLBCL może zostać zmieniony w zależności od panujących warunków, umożliwiając komórkom przeżycie w stale zmieniającym się mikrośrodowisku. Dlatego **ważnym aspektem jest zbadanie zdolności komórek DLBCL do przeprogramowywania ścieżek pozyskiwania energii oraz metabolizmu lipidów.**

Przyczyn oporności komórek DLBCL na leczenie może być wiele np. mutacje genetyczne i epigenetyczne, mikrośrodowisko, zmiany w szlakach sygnalizacyjnych i metabolicznych. Pewnym sposobem przezwyciężenia lekooporności może stać się lepsze zrozumienie klasyfikacji DLBCL umożliwiające systematyczną identyfikację słabych punktów molekularnych i rozwój terapii celowanych. Dlatego tak istotne klinicznie było opracowanie sytemu klasyfikacji DLBCL na podtyp OxPhos i non-OxPhos i zwrócenie uwagi na to, że **komórki chłoniaka zależne są od różnych mechanizmów przeżycia i w zależności od warunków wykazują specyficzne szlaki metaboliczne.** Lepsze zrozumienie wpływu przeprogramowania metabolicznego na uwrażliwienie komórek na chemioterapię to krok w stronę rozwijania nowych strategii terapeutycznych, które mogą skutecznie przełamać oporność i poprawić wyniki leczenia pacjentów z DLBCL.

Realizacja celów projektu wymaga zastosowania **czułych i specyficznych** metod molekularnych zdolnych do identyfikacji różnic biochemicznych na poziomie pojedynczych komórek (a nawet organelli). Do grupy takich metod należy **spektroskopia oscylacyjna**, czyli mikroskopia ramanowska i spektroskopia absorpcyjna w podczerwieni, które w sposób **niedestrukcyjny oraz niewymagający znakowania komórek** potrafią uchwycić **zmiany molekularne** wynikające np. ze stymulacji farmakologicznej. Spektroskopia oscylacyjna badając oddziaływania cząsteczek ze światłem jest w stanie śledzić zmiany biochemiczne (lipidów, białek, kwasów nukleinowych) zachodzące w pojedynczych komórkach. Tym samym jej zastosowanie umożliwia identyfikację **biomarkerów** weryfikujących zmiany w metaboliźmie komórkowym oraz odpowiedź komórki na działanie leków. Zmieniający się skład i stopień nienasycenia lipidów, zmiany w konformacji białek lub zmiany w zawartości cytochromów to tylko kilka przykładów markerów możliwych do oznaczenia technikami oscylacyjnej spektroskopii.

Hipoteza badawcza proponowanego projektu zakłada, że przeprogramowanie metabolizmu komórek DLBCL jest w stanie uwrażliwić lekooporne komórki na chemioterapię, eksponując tym samym szereg zmian (chemicznych i/lub morfologicznych) wykrywalnych za pomocą technik mikroskopii oscylacyjnej. Projekt zakłada, że fenotypowanie spektralne komórek opornych i wrażliwych pozwoli na identyfikację komórek zdolnych do rozwijania lekooporności DLBCL.

Głównym celem projektu jest ocena wpływu przeprogramowania ścieżek metabolicznych fosforylacja oksydacyjna-glikoliza oraz blokowanie wybranych szlaków metabolizmu lipidów na oporność komórek DLBCL na wybrane leki stosowane w standardowym protokole leczenia chłoniaka. Dotychczasowe wyniki badań wykazały, że przy wykorzystaniu technik spektroskopii oscylacyjnej możliwe jest rozróżnienie linii komórkowych DLBCL wykazujących różne mechanizmy pozyskiwania energii. W celu osiągnięcia, założonego celu, zrealizowany zostanie szereg zadań ukierunkowanych na znalezienie zmian molekularnych, metabolicznych i morfologicznych w liniach komórkowych DLBCL manifestujących się w komórkach wskutek stymulacji farmakologicznej za pomocą multimodalnego podejścia opartego na mikroskopii ramanowskiej i fluorescencyjnej oraz spektroskopii absorpcyjnej w podczerwieni, wspieranego referencyjnymi oznaczeniami biologicznymi.

Projekt łączy w sobie badania podstawowe zgłębiające mechanizmy metaboliczne komórek DLBCL z opracowywaniem nowych ścieżek walki z powszechną w chłoniakach lekoopornością. **W efekcie opracowane zostaną nowe sposoby identyfikacji lekooporności komórek DLBCL i śledzenia modulacji ich metabolizmu, dając możliwość znalezienia nowych celów terapeutycznych oraz udoskonalania standardowych schematów leczenia.**