

Vsebinski opis projekta:

Multiformni glioblastom je najpogostejši in najbolj smrten možganski tumor, ki je bolj pogost med starejšimi moškimi kavkazijskega porekla (Agnihotri S., *et al.* PMID: 23224339). Diagnoza tumorja v zgodnji fazi je izziv, saj simptomi niso specifični (glavobol, zmedenost, izguba spomina). Standardno klinično zdravljenje boleznih se prične s kirurško odstranitvijo tumorja, čemur sledita obsevanje in kemoterapija. Vendar tudi ob uporabi alternativnih metod življenjska doba bolnikov po diagnozi ne presega 12 do 18 mesecev (Veliz I., *et al.* PMID: 25705639, Agrawal NS., *et al.* PMID: 25346943, Bloch O., *et al.* PMID: 28193626, van Woensel M., *et al.* PMID: 24202332, Gruber ML., *et al.* PMID: 14758131, Ma C., *et al.* PMID: 28003765). Pri zdravljenju glioblastoma se soočamo s tremi večjimi problemi: njegovo hitro rastjo, lokacijo znotraj lobanje in pozno diagnozo. Kljub vsem metodam zdravljenja je glioblastom še vedno neozdravljiva bolezen. Prvi dve leti po diagnozi preživi 26% bolnikov, pet let po diagnozi pa le še 5% bolnikov (Agrawal NS., *et al.* PMID: 25346943, Veliz I., *et al.* PMID: 25705639). Hitro napredovanje boleznih in visoka smrtnost samo poudarjata potrebo po razvoju novih terapevtskih metod. Navkljub naraščajočemu številu objav na področju "bio-označevalcev raka", še vedno ne obstaja ena sama molekula, ki bi se lahko uporabljala kot univerzalni označevalec glioblastoma. Terapevtske metode je treba razviti v smeri ciljanja določene podskupine celic (kot so rakave matične celice) ali celične lastnosti, ki je ključnega pomena za razvoj tumorja. Da bi zmanjšali poškodbe na okoljskem tkivu, je potrebna identifikacija specifičnih bio-označevalcev glioblastoma, ki bi se lahko uporabljali za razvoj ciljanih terapevtskih metod, kar bo sčasoma izboljšalo nego bolnikov in pričakovano življenjsko dobo.

Namen raziskave je pridobitev in funkcionalna karakterizacija nanotelesa usmerjeno proti FREM2 proteinu. V naši prejšnji raziskavi (Vidak M., *et al.* PMID: 29734672) smo s pomočjo *in silico* pristopa identificirali protein FREM2 kot potencialni bio-označevalec glioblastoma. Raven izražanja FREM2 gena in proteina smo proučevali v različnih glioblastomskih celičnih linijah in astrocitih. Zanimiva ugotovitev je bila izražanje FREM2 na površini glioblastomskih celic, česar nismo opazili pri referenčni celični liniji. Da bi ocenili možnost uporabe FREM2 v klinični praksi, smo analizirali njegovo izražanje na genski in proteinski ravni v človeških gliomskih in referenčnih tkivnih vzorcih, ter izvedli *in silico* analizo, s podatki iz podatkovne baze projekta The Cancer Genome Atlas (Jovčevska I., *et al.* PMID: 31357584). Naši rezultati nakazujejo, da je *FREM2* v pozitivni korelaciji s preživetjem bolnikov diagnosticiranih z glioblastomom *IDH* divjega tipa in v negativni korelaciji pri bolnikih z gliomi nižje stopnje. FREM2 je zanimiva tarča za razvoj mehanizmov ciljanja zaradi selektivnega površinskega izražanja v glioblastomskih celicah. Pridobljeno anti-FREM2 nanotelo bi lahko v nadaljevanju razvili kot biološko nano-zdravilo v primeru, da bo pokazalo selektivni toksični učinek za glioblastomske celice v primerjavi z nemalignimi astrociti. Pridobljeno nanotelo bi lahko uporabili kot nosilec oz. za prenos citotoksičnih sredstev do specifičnih podskupin celic. V prejšnjih raziskavah smo že pokazali, da so nanotelesa uporabna kot sredstva za selekcijo bio-označevalcev specifičnih za določene bolezni (Jovčevska I., *et al.* PMID: 25419715, Jovčevska I., *et al.* PMID: 28498803, Šamec N., *et al.* PMID: 29707108). Nanotelesa so najmanjši naravni antigen-vezavni fragmenti z edinstveno specifično vezavo antigena (Muyldermans S. PMID: 23495938). Nanotelesa vsebujejo številne prednosti kot so majhnost, stabilnost proti nefiziološkemu pH in ekstremnim temperaturam, vodotopnost in ekonomična proizvodnja, zaradi katerih so uporabna pri raziskavah. **S to raziskavo pričakujem**, da bom pridobila nanotelo z visoko specifičnostjo in afiniteto proti njegovemu antigenu – FREM2. Takšno nanotelo bi se lahko naprej uporabljalo pri selektivnem ciljanju glioblastomskih celic s povzročitvijo minimalne škode na sosednjih celicah.

Raziskava je financirana s strani Agencije za raziskovalno dejavnost Republike Slovenije (ARRS). Eksperimentalno delo bo izvedeno na Inštitutu za biokemijo Medicinske fakultete UL in v sodelovanju z Inštitutom Jožef Stefan v Ljubljani.