

Molekularny profil egzosomów wydzielanych przez komórki nowotworowe w osoczu pacjentów z rozpoznaniem czerniaka

W ostatnim czasie w badaniach nad biologią nowotworów coraz większą uwagę zwraca się na egzosomy. Są to małe (30-100 nm) pęcherzyki błonowe uwalniane z komórek. Wydzielanie egzosomów zaobserwowano w hodowli *in vitro* większości typów komórek. W warunkach *in vivo* obecność egzosomów wykazano w płynach ustrojowych, takich jak krew, płyn oskrzelowopęcherzykowy, płyn maziowy czy mleko. Egzosomy zawierają białka, lipidy, mRNA i mikroRNA obecne w komórce "rodzicielskiej", jednak w związku z selektywnością pakowania do nich cząsteczek ich skład nie jest identyczny ze składem cytoplazmy. W egzosomach stwierdzono obecność między innymi błonowych białek adhezyjnych i transportowych, składników cytoszkieletu, markerów lizosomalnych, czynników prezentacji przeciwciał, receptorów błonowych, cytokin, białek szoku cieplnego i licznych enzymów. Oprócz „uniwersalnego” zestawu białek błonowych i cytozolowych, w obrębie proteomu egzosomów obserwuje się białka swoiście związane z funkcjami komórek. Obecność w egzosomach swoistych białek uwalnianych przez komórki nowotworowe wskazuje na istnienie mechanizmu ukierunkowanego sortowania tych molekuł, a poszczególne białka mogą być traktowane jako znaczniki wskazujące na pochodzenie egzosomów i stan funkcjonalny komórki, która je uwolniła. Wykazano także występowanie dodatniej korelacji między liczbą egzosomów we krwi chorych a stopniem zaawansowania choroby, co może dodatkowo potwierdzać ich znaczenie w progresji nowotworu.

Rozwój nowotworu jest złożonym procesem, w którym układ immunologiczny zaczyna odgrywać rolę w chwili pojawienia się pierwszych komórek nowotworowych. Niestety w przypadku nowotworów zostały wykształcone liczne mechanizmy powodujące obniżenie efektywności układu odpornościowego wynikające między innymi z szybkiego rozrostu guza, zaniku prezentowanych antygenów na komórce rakowej lub częstej zmiany prezentowanego antygeny. Jedną z funkcji, którą przypisuje się egzosomom jest właśnie hamowanie odpowiedzi immunologicznej w reakcji na rozwijający się nowotwór, np. poprzez inicjowanie przekształcania się komórek układu immunologicznego w komórki hamujące odpowiedź immunologiczną. Egzosomy mogą nie tylko ułatwiać ucieczkę nowotworu spod nadzoru immunologicznego, ale również promować jego rozwój przez przenoszenie cząsteczek sygnałowych między komórkami modulując mikrośrodowisko guza.

Proponowany projekt dotyczy oceny białkowego profilu egzosomów uwalnianych przez komórki czerniaka. W osoczu krwi pacjentów z rozpoznaniem czerniaka znajdują się zarówno egzosomy uwalniane przez komórki prawidłowe jak i komórki nowotworowe. Ze względu na wielkość cząsteczek oraz ilość uzyskiwanego materiału techniki spektrometrii mas wydają się być idealnym narzędziem do analizy jakościowej i ilościowej składu białkowego egzosomów. Białka egzosomów otrzymywane z próbek osocza krwi pacjentów z rozpoznaniem czerniaka będą poddane analizom z wykorzystaniem techniki LC-MS/MS. W badaniach wykorzystany zostanie hybrydowy spektrometr mas z analizatorem typu Orbitrap znakomicie nadający się do analizy jakościowej/ identyfikacji badanych związków oraz dający możliwość wykonywania pomiarów ilościowych w trybie SRM/MRM. Zastosowanie ukierunkowanych metod proteomiki takich jak SRM/MRM pozwoli na wygenerowanie map referencyjnych dla składników proteomu egzosomów lub określonych podzbiorów tych proteomów o znaczeniu klinicznym.

Projekt będzie realizowany przez interdyscyplinarny zespół badawczy z Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów w Centrum Onkologii - Instytucie w Gliwicach (COG) we współpracy z grupą biologów molekularnych z Zakładu Patologii w Instytucie Raka Uniwersytetu w Pittsburgu (UPCI) kierowanego przez Prof. Theresę Whiteside, oraz z Dr. Johnem M. Kirkwoodem (UPCI) – renomowanym specjalistą z zakresu diagnostyki i leczenia czerniaka.

Unikalny profil molekularny egzosomów pochodzących z osocza, a produkowanych przez komórki czerniaka może służyć jako odpowiednik „płynnej biopsji”. Poznanie białkowych składników egzosomów produkowanych przez komórki czerniaka *in vivo* pozwoliłoby na badanie funkcji tych pęcherzyków w rozwoju tego nowotworu. Mamy nadzieję, że nawiązanie tej współpracy pozwoli w przyszłości na opracowanie metody nieinwazyjnego monitorowania w czasie rzeczywistym obecności guza, progresji/regresji w czasie leczenia oraz przewidywanie rokowania chorych na czerniaka i przyczyni się do lepszego poznania biologii tego nowotworu.