

Nowotwory piersi należą do najczęściej występujących chorób onkologicznych u kobiet i pomimo ogromnych nakładów finansowych i badawczych, wciąż stanowią poważny problem w obszarze zdrowia publicznego. Obecnie najczęściej stosowanymi metodami leczenia tych nowotworów są chemioterapia, radioterapia i leczenie operacyjne. Jednak coraz większą rolę odgrywa terapia celowana, która w swoim założeniu polega na precyzyjnej eliminacji komórek nowotworowych, dzięki czemu jest bardziej efektywna i bezpieczna dla pacjenta. Jednym z najszybciej rosnących segmentów onkologicznych dla celowanej terapii są tzw. proleki czyli chemoterapeutyki, które aktywowane są tylko w komórkach lub w pobliżu komórek nowotworowych. Jedną z głównych grup enzymów, która aktywuje takie proleki są proteazy. Enzymy te stanowią bardzo dobry cel terapeutyczny, gdyż wiele z nich jest nadprodukowanych właśnie w obrębie nowotworów. Jednak badania pokazały, że (nad)produkcja proteaz u pacjentów onkologicznych jest zróżnicowana, co implikuje konieczność indywidualnej analizy materiału tkankowego pobranego od pacjenta. Z uwagi na dużą liczbę proteaz zaangażowanych w proces nowotworzenia, takie badania wymagają użycia metod, które pozwalają na multiparametryczną analizę badanej próbki.

W tym projekcie planujemy wykorzystać nową technikę badawczą jaką jest cytometria masowa do analizy poziomu ekspresji i aktywności lizosomalnych proteaz (katepsyn i legumainy), o których wiadomo, że są zaangażowane w proces rozwoju nowotworów piersi. Otrzymany profil ekspresji tych enzymów u poszczególnych pacjentów zostanie następnie wykorzystany do opracowania proleków nowej generacji, które będą składały się ze związku cytotoksycznego połączonego z peptydem, który będzie selektywnie rozpoznawany przez daną proteazę. Użyteczność otrzymanych peptydowych proleków zostanie następnie zbadana *ex vivo* na komórkach nowotworowych pochodzących od pacjentów. Uważamy, że wykorzystanie cytometrii masowej do multiparametrycznej analizy proteaz w połączeniu z opracowaniem nowych, selektywnych proleków aktywowanych proteazami stanowi optymalną platformę biologiczno-chemiczną do poszukiwania nowych strategii leczenia nowotworów.

Dokładna analiza ekspresji i aktywności poszczególnych proteaz może także pomóc w lepszym zrozumieniu np. wyników terapii (neo)adjuwantowej, gdyż wiadomo, że zwiększona aktywność niektórych proteaz jest ściśle skorelowana z agresywnością nowotworów. Co więcej terapie hormonalne u niektórych pacjentów mają niską skuteczność właśnie ze względu na zwiększoną aktywność enzymów proteolitycznych, które degradują tzw. markery nowotworowe (np. HER-2), będące celami terapeutycznymi leków (np. terapeutycznych przeciwciał). Co więcej w dłuższej perspektywie czasowej, będzie można skorelować przeżywalność pacjentów, przerzutowanie nowotworów i nawrót choroby z poszczególnymi proteazami, gdyż jak wcześniej wspomniano, odpowiadają one za agresywność nowotworów.

**Znaczenie społeczne i ekonomiczne:** Poznanie dokładnej roli proteaz i ich endogennych inhibitorów w klinicznym obrazie raka piersi jest konieczne dla lepszego „zarządzania” tą chorobą. Poprzez zastosowanie cytometrii masowej do badania proteaz w nowotworach piersi stworzymy nową platformę badawczą, która pomoże lepiej zrozumieć biologię tych nowotworów oraz przyczynić się do opracowania bardziej dokładnych reguł klasyfikacji raka piersi, tak aby można było lepiej przewidywać jego postępy np. w kontekście odpowiedzi na chemioterapię. Co więcej, w tym projekcie planujemy stworzyć nową generację proleków, które będą selektywnie aktywowane tylko przez proteazy, będące nadprodukowane przez komórki nowotworowe, co znacząco ograniczy ich toksyczność względem zdrowych komórek.