

W trakcie progresji choroby nowotworowej zwiększaniu się objętości guza towarzyszy zwykle rozwój sieci naczyń krwionośnych w obrębie zmienionej tkanki określanej mianem angiogenezy. Pozwala ona na dostarczenie szeregu substancji niezbędnych do przeżycia komórek nowotworowych oraz umożliwia ich migrację do miejsc tworzenia przerzutów. Inicjacja procesu angiogenezy jest związana z aktywacją szeregu ścieżek sygnałowych w komórkach nowotworowych, czego efektem są wzmożone podziały (prolifерacja) i migracja komórek śródbłónka naczyń krwionośnych (endotelialnych). Za jeden z mechanizmów pośredniczących w interakcjach komórek nowotworowych i komórek endotelialnych uznaje się uwalnianie z powierzchni komórek nowotworowych mikropęcherzyków błonowych – egzozosmów i ektosomów. Są to niewielkie, otoczone fosfolipidową błoną kolistą struktury, zdolne do przenoszenia bioaktywnych cząsteczek – białek, lipidów i kwasów nukleinowych (DNA, RNA, miRNA) między dowolnymi komórkami ludzkiego organizmu. Przekazanie wybranych sygnałów przez mikropęcherzyki może opierać się na interakcjach ligand-receptor, na fuzji mikropęcherzyka z błoną komórki docelowej lub jego internalizacji do wnętrza komórki (endocytozie). Bez względu na mechanizm, mikropęcherzyki mogą modulować istotne procesy biologiczne w komórkach guza, a także w związanych z nim komórkach endotelialnych.

Z powodu późnej diagnostyki, często w zaawansowanych stadiach choroby, czerniak skóry jest wciąż nowotworem o bardzo wysokiej śmiertelności. Inwazja komórek nowotworowych do światła naczyń krwionośnych jest kluczowa dla rozwoju przerzutów, a zatrzymanie progresji choroby na tym etapie znacząco poprawia rokowania pacjentów. Z tego względu interakcje komórek nowotworowych i endotelialnych są przedmiotem nieustających badań. W przypadku czerniaka skóry znaczenie ektosomów (mikropęcherzyków błonowych o średnicy od 100 do 1000 nm) dla wspomnianych interakcji nie zostało jeszcze zbadane. Poniższy projekt jest pierwszym podejmującym tą tematykę i pierwszym badającym znaczenie ektosomalnego transferu integryn  $\alpha\beta3$  i  $\alpha\beta5$  – receptorów transbłonowych zaangażowanego w adhezję komórek do składników macierzy zewnątrzkomórkowej i o udokumentowanych właściwościach proangiogennych. Identyfikacja alternatywnych czynników proangiogennych takich jak integryny  $\alpha\beta3$  i  $\alpha\beta5$  w mikropęcherzykach błonowych jest niezbędna do poznania i rozwoju faktycznego potencjału antynowotworowych terapii skierowanych przeciwko różnym populacjom mikropęcherzyków. Uzyskane wyniki dostarczą istotnych informacji w zakresie mechanizmów regulujących proces patologicznej angiogenezy, mogących przysłużyć się do opracowania nowych antyangiogennych strategii w terapii czerniaka skóry.

Celem projektu jest ocena proangiogennego wpływu integryn  $\alpha\beta3$  i  $\alpha\beta5$  obecnych w ektosomach uwalnianych *in vitro* przez cztery linie komórkowe ludzkiego czerniaka skóry reprezentujące różne stadia choroby. Hipoteza badawcza zakłada, że ektosomy uwalniane przez komórki czerniaka mogą stymulować proangiogeny fenotyp komórek endotelialnych, a mediatorami tych interakcji są integryny  $\alpha\beta3$  i  $\alpha\beta5$  transportowane za pośrednictwem ektosomów. Pierwszy etap projektu obejmuje zbadanie stopnia inkorporacji ektosomów przez komórki endotelialne żyły pępowinowej (HUVEC, ang. human umbilical vein endothelial cells) i mikrokrążenia skórne (HDMEC, ang. human dermal microvascular cells), oraz towarzyszących temu zmian w ekspresji białka i genów dla integryn  $\alpha\beta3$  i  $\alpha\beta5$  w komórkach endotelialnych. Następnie zanalizowany zostanie funkcjonalny wpływ ektosomów przenoszących integryny  $\alpha\beta3$  i  $\alpha\beta5$  na proliferację, migrację i zdolność do tworzenia struktur naczyniopodobnych przez komórki endotelialne, oraz na aktywację proangiogennych ścieżek sygnalizacji wewnątrzkomórkowej. Angiogeneza indukowana przez ektosomy zostanie zbadana również w warunkach *in vivo* z wykorzystaniem unaczynionych błon kosmówkowo-omocznionych kurzych zarodków.