

Surowicze guzy jajnika (SOT) stanowią najczęstszy typ histopatologiczny nabłonkowych rozrostów jajnika. Rak jajnika, najczęściej występujący jako typ surowiczny (SOC), jest główną przyczyną śmierci z powodu nowotworów żeńskich narządów płciowych. Większość SOC (90%) to raki nisko zróżnicowane (ang. *high-grade*, HGSOC), pozostałe są wysoko zróżnicowane (ang. *low-grade*, LGSOC). Surowicze guzy graniczne jajnika (SBOT) są rzadką grupą nowotworów (~10% wszystkich nowotworów nabłonka jajnika) o pośrednim potencjale złośliwym i tendencji do złośliwej transformacji, zwykle do LGSOC. SBOT są pierwotnie chemiooporne, podczas gdy SOC, po standardowym leczeniu zazwyczaj ostatecznie nawracają jako chemiooporne. Guzy jajnika najczęściej rozwijają się bezobjawowo i dlatego są trudne do zdiagnozowania.

Istnieje więc konieczność opracowania nowych metod przesiewowych, diagnostycznych, prognostycznych, predykcyjnych i terapeutycznych. Mikrośrodowisko guza (TME) z jego złożonym składem komórkowym oraz zróżnicowaniem komponentów niekomórkowych oraz białkowych, a także regulatorowych RNA (w tym długich niekodujących (lnc)RNA), indukuje immunosupresję i odgrywa kluczową rolę we wzroście guza, progresji i odpowiedzi na leczenie. Jak dotąd praktycznie nic nie wiadomo o TME w SBOT, w LGSOC pozostaje ono słabo poznane, natomiast w HGSOC wciąż wymaga dalszych badań. O lncRNA w OT też niewiele wiadomo.

Naszym celem jest: 1) kompleksowa charakterystyka komórkowych i molekularnych składników TME w SBOT, LGSOC i HGSOC w kontekście cech kliniczno-patologicznych, 2) określenie roli lncRNA w OT i identyfikacja nowych lncRNA, 3) określenie czy lokalne mediatory odpowiedzi odpornościowej i lncRNA mają odzwierciedlenie na obwodzie; 4) zbadanie *in vitro* funkcji wybranych lncRNA i genów istotnych w TME, 5) identyfikacja potencjalnych biomarkerów jako podstawy nowych metod diagnostyki, monitorowania i terapii OT.

Dysponujemy unikalnym, dużym zbiorem mrożonych i zatopionych w parafinie próbek SBOT i SOC, uzyskanych od pacjentek przed leczeniem. Pacjentki były obserwowane przez wiele lat, a dokładna charakterystyka kliniczno-patologiczna została opracowana przez doświadczonego patologa oraz onkologa. Posiadamy również zamrożone próbki prawidłowych jajników/jajowodów oraz serię prospektywnie zebranych par próbek nowotworów i osocza krwi obwodowej od chorych na SOT oraz osocza krwi obwodowej od zdrowych dawców.

Badania będą prowadzone z użyciem najnowocześniejszych metod. Szczegółowa analiza transkryptomów mikrośrodowiska SBOT i SOC zostanie zweryfikowana i uzupełniona oceną na poziomie wybranych białek. Zmiany ekspresji zostaną przeanalizowane w kontekście cech kliniczno-patologicznych i molekularnych, chemiooporności, a następnie funkcje wybranych cząsteczek zostaną zbadane w modelach *in vitro*.

Transkryptomy zostaną scharakteryzowane jakościowo i ilościowo, przy użyciu metody sekwencjonowania nowej generacji (NGS). Po izolacji RNA, przygotowaniu bibliotek cDNA, ocenie ich jakości, zostanie przeprowadzona analiza sekwencji RNA na platformie NGS HiSeq 1500 (Illumina). Kolejne etapy pracy obejmą weryfikację wyników NGS za pomocą technologii NanoString oraz zbadanie immunohistochemiczne składu populacji komórek (oszacowanych wcześniej metodami bioinformatycznymi) i białek immunomodulujących w TME. Wybrane białka immunomodulujące i lncRNA będą również badane za pomocą odpowiednio: ELISA i RT-qPCR w osoczu krwi obwodowej uzyskanej od części pacjentów z guzami jajnika i od zdrowych dawców. Funkcje wybranych genów będą badane *in vitro* w liniach komórkowych OC, po nadekspresji/wyciszeniu ekspresji z zastosowaniem systemu CRISPR/Cas9. Następnie standardowymi metodami oceniane będzie tempo proliferacji, apoptoza, żywotność komórek, cykl komórkowy i wrażliwość na cytostatyki (na cisplatynę, cyklofosfamid, paklitaksel). Zostaną zastosowane kompleksowe metody bioinformatyczne (w tym ukierunkowane na ocenę składu populacji na podstawie sekwencji całkowitego RNA oraz odkrywanie nowych i badanie funkcji lncRNA, w tym z użyciem autorskiego oprogramowania) i statystyczne.

Nowością w naszych badaniach będzie niewykonywana wcześniej kompleksowa charakterystyka molekularna i komórkowa mikrośrodowiska SBOT i SOC w kontekście parametrów kliniczno-patologicznych, odpowiedzi na leczenie i przeżycia oraz w porównaniu do charakterystyki prawidłowych tkanek jajnika/jajowodów. Uzyskane zostaną następujące oryginalne dane: cechy mikrośrodowiska BOT, dodatkowo oceniane w kontekście LGSOC, profile ekspresji i funkcje lncRNA w SBOT, LGSOC i HGSOC, odkrycie nowych cząsteczek lncRNA. Prezentowany projekt poświęcony jest ponadto mechanizmom oporności na leczenie, a także wpływom lokalnego i ogólnoustrojowego statusu immunologicznego oraz lncRNA na progresję nowotworu i wyniki leczenia. Ma to kluczowe znaczenie dla lepszego zrozumienia biologii OT, jednak projekt ma również znaczny potencjał translacyjny.

Nasza unikalna, bogata kolekcja dokładnie scharakteryzowanych próbek OT, pobranych od pacjentów monitorowanych przez wiele lat, wzbogacona o prawidłowe tkanki jajników/jajowodów oraz o prospektywnie pobrane próbki tkanek i osocza krwi obwodowej, stanowi doskonały materiał do tego badania.