

Titlul proiectului: Evaluarea microARN-urilor din încărcătura exosomală în vederea identificării mecanismelor de rezistență la terapie în cancerul de sân triplu negativ

Acronim: SUNRISE - exoSomes drUg resistaNce tRIple breasT cancEr

ID : PN-III-P1-1.1-PD-2021-0471

Perioada de raportare :

Coordonator : Universitatea de Medicină și Farmacie “Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca – RO, Departament – Centrul de Cercetări pentru Genomică Funcțională, Biomedicină și Medicină Translațională

Director de proiect : CSIII Dr Jurj Maria-Ancuta

Mentor: Prof. Univ. Dr. Ciuleanu Tudor Eliade

Principalele obiective ale proiectului sunt următoarele:

1. Analiza microARN-urilor în exosomii izolați din celulele de cancer de sân triplu negativ sensibile și rezistente la terapia cu doxorubicin și din fibroblaști, punându-se accent pe nivelele alterate de microARN în legătură cu rezistența la terapie.

2. Determinarea efectului dat de fibroblaști asupra biologiei celulelor de cancer de sân triplu negativ sensibile la terapie, arătând modularea rezistenței la doxorubicină prin transferul exosomilor și a factorilor solubili secretați de fibroblaști în spațiul extracelular.

WP3. Evaluarea nivelului de expresie a microARN-urilor exozomale derivate din plasma izolată de la pacienții cu cancer de sân triplu negativ ca marker de predicție a rezistenței la terapie (lunile 1-24).

Activitatea 3.1 – Criteriile de selecție a pacienților incluși în studiu și aprobarea comisiei de etică (lunile 1 - 12). Această activitate s-a bazat pe obținerea a consimțământul informat scris de la toți pacienții incluși în studiu. În prezentul studiu, pacientele cu vârsta de peste 18 ani au fost incluse în studiu.

Următoarele două etape, *Activitatea 3.2. Recoltarea probelor de sânge (lunile 4 - 18)* și *Activitatea 3.3. Pregătirea probelor de sânge (lunile 4 - 20)* presupun partea de recoltare a probelor de sânge de la pacienții cu cancer de sân și subiecți sănătoși. Probele biologice au fost recoltate pe tuburi EDTA și procesate în vederea obținerii plasmei din care au fost izolați exosomii. Prima etapă se bazează pe o centrifugare la 4°C timp de 10 min la 4000 x g care presupune separarea plasmei de restul componentelor sanguine. Plasma astfel obținută a fost ultracentrifugată timp de 2h la 100,000 x g care a determinat separarea exosomilor de microvezicule și posibili corpi apoptotici. Exosomii astfel obținuți au fost supuși caracterizării fizice.

Ultimele două activități, *Activitatea 3.4. Caracterizarea fizică și moleculară a exosomilor derivați din plasmă (lunile 20-22)* și *Activitatea 3.5. Validarea celor mai semnificative miARN-uri în exosomi derivați de TNBC utilizând RT-qPCR (lunile 22 - 24)* se bazează pe partea de caracterizare fizică și moleculară. Caracterizarea fizică a fost realizată folosind două tehnici, NanoSight care oferă informații despre dimensiunea exosomilor și Microscopia de transmisie electronica (TEM) care arată dimensiunea acestor entități și evidențiază morfologia caracteristică de “cup-shape”. După confirmarea exosomilor în probele analizate, tehnica RT-qPCR a fost folosită pentru a analiza nivelul de expresie a miR-19b, miR-21 și miR-125a. A fost demonstrat că aceste miR-uri sunt implicate în modularea unor importante procese biologice, precum rezistența la terapie, scăderea ratei de supraviețuire, asocierea cu procesul de metastazare și stadiu TNM a pacienților cu cancer de sân. Astfel, aceste miR-uri pot să fie considerate biomarkeri pentru prognostic și diagnostic în cazul pacienților diagnosticați cu cancer de sân.