

Cytometria masowa (CyTOF) to przełomowa technologia umożliwiająca jednoczesne wykrywanie ponad 50 markerów komórkowych na poziomie pojedynczych komórek, bez nakładania się sygnałów. Jest to możliwe dzięki zastosowaniu przeciwciał sprzężonych ze stabilnymi izotopami metali, co pozwala na wysoko przepustową analizę złożonych układów biologicznych. Obrazowa cytometria masowa (IMC) rozszerza możliwości tej platformy o analizę skrawek tkankowych, łącząc technologię CyTOF z laserową ablacją o wysokiej rozdzielczości, co umożliwia przestrzenną wizualizację architektury komórkowej i interakcji w obrębie tkanki.

Wykorzystując wysoką rozdzielczość przestrzenną i wielowymiarowość tych technologii, cytometria masowa oraz IMC zostały zastosowane do badania raka piersi – jednego z najczęstszych i najbardziej śmiertelnych nowotworów na świecie. Pomimo postępów w diagnostyce i leczeniu, wyniki terapeutyczne pacjentek pozostają bardzo zróżnicowane, zwłaszcza w regionach o ograniczonym dostępie do wczesnej diagnostyki. Istotną luką w wiedzy pozostają mechanizmy leżące u podstaw słabej odpowiedzi na standardową chemioterapię lub immunoterapię oraz rola mikrośrodowiska guza w oporności na leczenie.

Główną hipotezą badawczą tej rozprawy jest to, że profilowanie proteolityczne za pomocą cytometrii masowej może wspomóc dokładniejszą stratyfikację pacjentów. Wykrycie charakterystycznych wzorców aktywności i koekspresji proteaz może stanowić podstawę do opracowania bardziej spersonalizowanych i skutecznych strategii terapeutycznych. Druga hipotezą jest założenie, że lepsze zrozumienie roli proteaz w progresji nowotworu mogłoby umożliwić bardziej zachowawcze podejście chirurgiczne, zmniejszając liczbę niepotrzebnych resekcji węzłów chłonnych i związanych z tym powikłań.

W niniejszym badaniu przeanalizowano profil ekspresji proteaz w raku piersi. Proteazy regulują kluczowe procesy biologiczne, takie jak sygnalizacja komórkowa, modulacja odpowiedzi immunologicznej czy przebudowa macierzy zewnątrzkomórkowej. Ich deregulacja wiąże się z inwazją nowotworową, przerzutami oraz nieskutecznością leczenia.

Jednak sama obecność białka nie odzwierciedla jego aktywności enzymatycznej. Dlatego oprócz profilowania ekspresji zastosowano sondy chemiczne (ABP), które pozwalają bezpośrednio wykryć aktywne proteazy w mrożonych skrawkach tkanek. Wiążą się one kowalencyjnie z aktywnym miejscem enzymu, umożliwiając detekcję tzw. aktywowemu – funkcjonalnie aktywnej części proteomu. Analiza proteolityczna została uzupełniona o profil immunologiczny oraz ocenę markerów wykorzystywanych w standardzie klinicznym.

Analizie poddano próbki guza, krwi i osocza pochodzące od pacjentek o różnych podtypach molekularnych i stadiach klinicznych choroby. Profile proteaz zostały zintegrowane z markerami klinicznymi, takimi jak HER2, ER i Ki-67. IMC umożliwiło przestrzenne mapowanie rozmieszczenia proteaz w obrębie guza, ujawniając zależności z naciekiem immunologicznym, organizacją tkanki i charakterystyką zrębu guza.

Badania zostały przeprowadzone na Politechnice Wrocławskiej pod kierunkiem prof. Marcina Poręby, dostarczając nowych wniosków metodologicznych i biologicznych w dziedzinie onkologii, cytometrii masowej oraz proteomiki funkcjonalnej.

