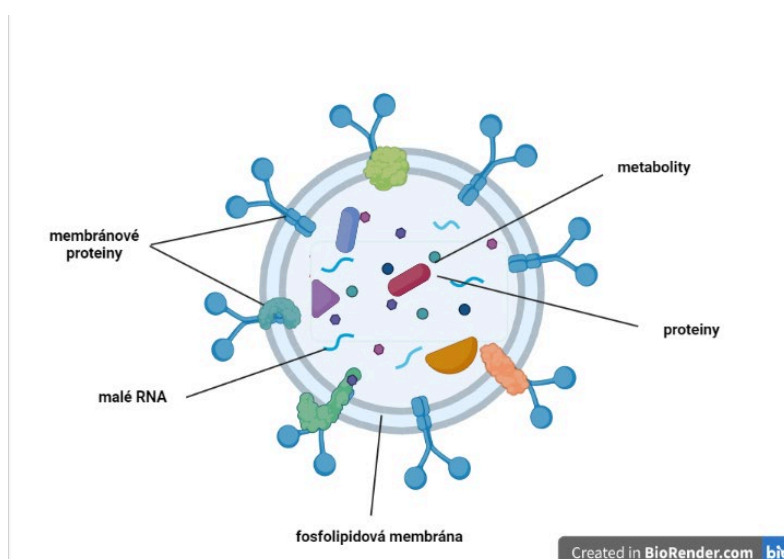


Exosomy pro terapeutické využití

Na Přírodovědecké fakultě UJEP se výzkumný tým pod vedením Mgr. Olgy Šebestové Janouškové, PhD. věnuje možnostem získávání a využívání buněčných váčků – tzv. exosomů. Výzkum se zabývá převážně cílenou dopravou terapeutik a potenciálem váčků pro využití jako nosičů biomarkerů pro řadu onemocnění. Tyto vlastnosti exosomů by v budoucnu mohly sloužit k odhalení různých chorob člověka i k léčbě závažných onemocnění, včetně rakoviny.

Exosomy jsou **malé membránové částice** (30 – 150 nm) uvolňované a přijímané buňkami všech živých organismů. Dříve bylo uvolňování exosomů buňkou považováno pouze jako mechanismus vyřazování nefunkčních a nepotřebných buněčných komponentů. Dnes je ale jasné, že se tyto váčky významně podílejí na **mezibuněčné komunikaci**, a to jak v rámci jednotlivých organismů, tak i mezi nimi. Mezibuněčná komunikace je regulována **přítomností bioaktivních molekul** (regulačních proteinů, lipidů a regulačních nukleových kyselin, jako jsou např. miRNA molekuly) uvnitř exosomů, díky kterým se váčky mohou podílet na změnách genové exprese, regulaci buněčných a fyziologických procesů recipienta. Je stále jasnější, že váčky uvolňované buňkami mají různý původ i rozmanité funkce. Savčí exosomy se nacházejí v různých biologických tekutinách, jako je moč, mateřské mléko, sliny apod., a jsou vylučovány různými typy buněk, a to za normálních i patologických podmínek. Prostřednictvím exosomů je tedy možné mapovat fyziologický i patologický stav jakéhokoliv živého organismu. Obecná struktura exosomu je zobrazena na Obrázku 1.



Obrázek 1: Schéma zobrazující obecnou strukturu exosomu. (Zdroj:autor)

Díky svým vlastnostem, jako je **biokompatibilita, neimunogenita a vysoká stabilita**, mají exosomy vysoký potenciál **v terapeutických a diagnostických oblastech**.

Jsou schopné obalit léčivo, projít plasmatickou membránou a doručit dané léčivo na místo určení, a to **bez vyvolání imunitní odpovědi** recipientního organismu. Přítomnost lipidické dvouvrstvy zabraňuje degradaci jejich obsahu a přispívá k udržení stability váčků v buňkách, čímž dochází ke snížení systémové toxicity léčiv. Jejich unikátní vlastnosti zlepšují biodistribuci přenášeného léčiva – jsou schopné procházet i hematoencefalickou bariérou, již běžně podávaná léčiva nemohou prostoupit. Exosomy, jejich nukleové kyseliny a proteiny je možné použít jako indikátory patofyziologických podmínek, a mohou tak sloužit jako indikátory onemocnění. Významně se podílejí zejména na **regulaci vzniku neurodegenerativních a kardiovaskulárních onemocnění, imunitních procesů i na regulaci vzniku rakoviny**. Příkladem může být schopnost savčích exosomů stimulovat mnohočetnou rezistenci k lékům (MDR – multi-drugresistance). Na problematiku vnášení léčiv pomocí exosomů je zaměřen projekt Grantovou agenturou České republiky – Hybridní nanovezikuly exosom-dendrimer pro genovou terapii a cílenou dopravu léčiv, který je realizován na Přírodovědecké fakultě UJEP pod vedením Mgr. Jana Malého, Ph.D.

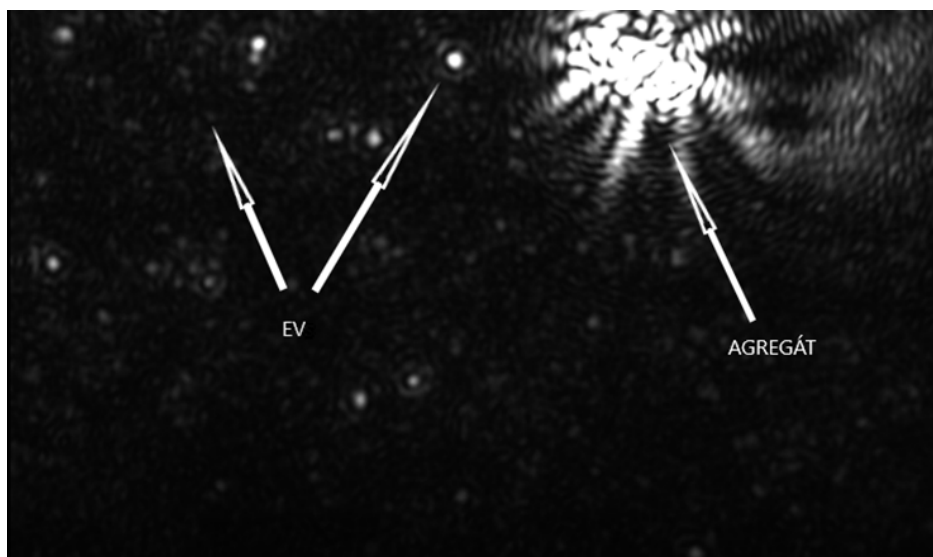
Exosomy jsou uvolňovány nejen buňkami živočichů, ale i buňkami rostlin. **Rostlinné váčky** se (stejně jako živočišné) podílejí na regulaci dějů v rostlinách i na přenosu buněčných signálů. K přenosu může docházet mezi rostlinami, ale i **mezi rostlinou a živočichem**. To přináší řadu potenciálních možností využití rostlinných exosomů, zejména při transportu terapeutik do lidských buněk. Exosomy pocházející z určitých druhů rostlin mohou mít **antioxidační, protinádorové, protizánětlivé i imunomodulační vlastnosti**, které mohou být do savčích buněk přenášeny spolu s exosomy. Na rostlinné váčky je zaměřen Studentské grantové soutěže UJEP projekt pod vedením Mgr. Hany Auer Malinské, Ph.D., který je zaměřen na izolaci rostlinných exosomů, jejich biochemickou a biofyzikální charakterizaci a na možnost jejich využití pro cílenou dopravu léčiv.



Obrázek 2: Rostlinné exosomy mohou být izolovány z explantátových rostlinných kultur. Tímto způsobem mohou být pěstovány rostliny nebo jejich části v přesně definovaných podmínkách prostředí. (Zdroj: autor)

Živočišné váčky mohou být získávány neinvazivně z buněčných kultur nebo z biologického materiálu (sliny, moč, mateřské mléko, krevní plasma atd.). Rostlinné váčky mohou pocházet z buněčných kultur (Obrázek 2), apoplastické tekutiny nebo z celých rostlin. Exosomy jsou izolovány řadou postupů. Jedním z nich je **ultracentrifugace** – metoda využívající vystavení biologického materiálu gravitačnímu zrychlení až stotisíckrát vyššího, než je přitažlivost Země. Díky této metodě je možné exosomy ze vstupního materiálu separovat a izolovat. Mgr. Alena Semerádtová, Ph.D. z PřF UJEP se v rámci grantové podpory UJEP na podporu projektů vědecké činnosti mladých vědeckých pracovníků zabývá vlivem izolačních metod na produkci exosomů jako mediátorů mezibuněčné komunikace a jejich využitím pro dopravu léčiv.

Následně je nutné provést biochemickou a biofyzikální analýzu exosomů, která nám poskytne informace o tom, jak dané exosomy vypadají (Obrázek 3), jaké mají vlastnosti a jestli jsou vhodné pro přepravu léčiva do určitých typů buněk (např. nádorových). Takovéto váčky je možné modifikovat proteiny, protilátkami apod., čímž dochází ke **specifickému zacílení** exosomu na cílovou buňku, a tedy přesnému dopravení terapeutika na místo určení.



Obrázek 3: Záznam pořízený přístrojem NanoSight zobrazující rozptýl exosomů (EV) a jejich agregátů ve vzorku. Přístroj využívající Nanoparticle Tracking Analysis umožňuje vizualizaci váčků v reálném čase. (Zdroj: autor)