



BIULETYN  
Wydziału Farmaceutycznego  
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Biul. Wyzd. Farm. WUM, 2019, 6, 29-35  
<http://biuletynfarmacji.wum.edu.pl/>

## PERSPEKTYWY ZASTOSOWANIA TERAPEUTYCZNEGO EGZOSOMÓW W NAJCZĘŚCIEJ WYSTĘPUJĄCYCH NOWOTWORACH

Mateusz Żaczko<sup>1</sup>, Tomasz Lorenc<sup>2</sup>, Wioletta Olejarz<sup>1,3\*</sup>, Grażyna Nowicka<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Zakład Biochemii i Farmakogenomiki, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa

<sup>2</sup>Zakład Radiologii Klinicznej, I Wydział Lekarski, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Chałubińskiego 5, 02-004 Warszawa

<sup>3</sup>Centrum Badań Przedklinicznych i Technologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, ul. Banacha 1b, 02-097 Warszawa

\*autorka korespondująca, tel: + 48 22 116 6185, e-mail: [wioletta.olejarz@wum.edu.pl](mailto:wioletta.olejarz@wum.edu.pl)

Otrzymano 21.02.2019, zaakceptowany 05.06.2019, zamieszczony 18.06.2019

### STRESZCZENIE

Egzosomy są pęcherzykami błonowymi wydzielanymi przez komórki, obecnymi w wielu płynach ustrojowych. Duże nadzieje pokładane są w wykorzystaniu ich w diagnostyce oraz terapii przeciwnowotworowej. Wykazano bowiem, że egzosomy zawierające przeciwciała mogą posłużyć do precyzyjnego transportu leków do komórek nowotworowych. Takie podejście może zmniejszyć uszkodzenia zdrowych komórek organizmu, co jest istotną kwestią skutecznego leczenia onkologicznego. Pęcherzyki te mogą stanowić potencjalne narzędzie do zahamowania rozrostu guzów nowotworowych i ich przerzutów do innych narządów. Badany jest również związek egzosomów z mechanizmem oporności na obecnie stosowane leki przeciwnowotworowe. Tematem niniejszej pracy przeglądowej jest przedstawienie najnowszych odkryć dotyczących zastosowania egzosomów w terapii przeciwnowotworowej, w najczęściej występujących nowotworach.

**SŁOWA KLUCZOWE:** egzosomy, nowotwory, terapia przeciwnowotworowa.

### ABSTRACT

#### PERSPECTIVES OF THERAPEUTIC USE OF EXOSOMES IN THE MOST COMMON CANCERS

Exosomes are membrane vesicles secreted by cells, present in many body fluids. High hopes for diagnosis and anti-cancer therapy are associated in the use of exosomes. It has been shown that exosomes containing antibodies can be used for the precise transport of drugs to cancer cells. Such treatment can reduce damage to healthy cells of the body, which is an important issue of effective cancer therapy. These nanovesicles may be a potential tool to inhibit the growth of cancerous tumors and their metastases to other organs. The relationship between exosomes and the mechanism of resistance to currently used anticancer drugs is also being investigated. The subject of this review is to present the latest discoveries regarding the use of exosomes in cancer therapy in the most common cancers.

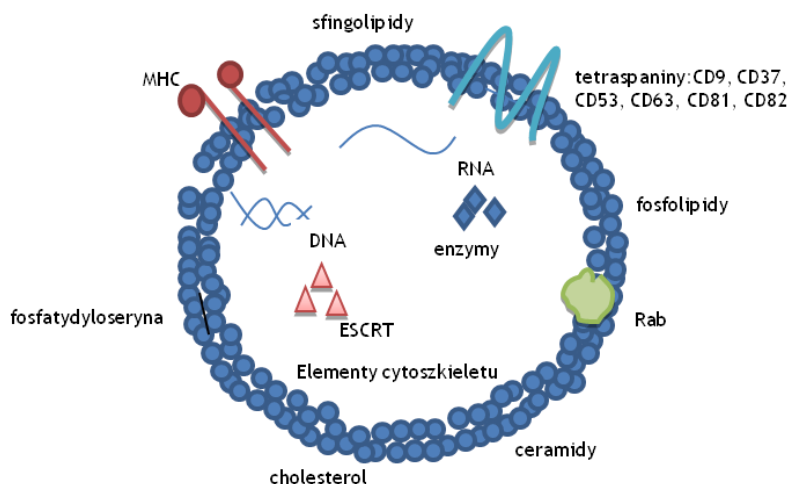
**KEYWORDS:** exosomes, cancers, anti-cancer therapy.

### 1. Wprowadzenie

Egzosomy są populacją mikropęcherzyków błonowych uwalnianych przez większość komórek zarówno w warunkach *in vivo*, jak i *in vitro* [1]. Występują w płynach ustrojowych osób zdrowych i chorych, w tym krwi, moczu, ślinie, żółci, mleku matki, płynie mózgowo-rdzeniowym [2,3] oraz w płynach organizmów zwierzęcych [4]. Zostały opisane przez Wolfa w 1967 r. jako małe struktury obecne w ludzkiej krwi, wytwarzane przez aktywowane płytki krwi i wykazujące działanie prokoagulacyjne. Określono je wówczas jako „pył płytkowy” [5]. W 1983 roku egzosomy zobrażowano także podczas obserwacji dojrzewania retikulocytów do erytrocytów, kiedy to zostały wydzielone z pierwotnych komórek i zachowały niektóre receptory oraz większość białek związanych z błoną [6,7]. Egzosomy zawierały również miRNA [7], jednak wtedy mylnie oceniono ich rolę jako cząstek usuwających zbędne produkty metabolizmu komórkowego [8]. Wielkość egzosomów mieści się w granicach 30-100 nm. Transportują one białka oraz kwasy nukleinowe (mRNA, mikroRNA, niekodujące RNA oraz fragmenty DNA). Biogeneza egzosomów rozpoczyna się procesem endocytozy, tj. wpuklania się błony komórkowej do światła komórki, w wyniku czego powstaje wczesny en-

dosom [9]. Powstają wówczas tzw. ciała wielopęcherzykowe (MVB, ang. *multivesicular body*). W procesie biogenezy, sekrecji oraz transporcie egzosomów szczególnie ważną funkcję odgrywa kompleks białkowy ESCRT (ang. *endosomal sorting complex required for transport*), którego rola polega na sortowaniu zawartości egzosomów. Badania dowiodły ponadto udział białek z rodziny Rab w sekrecji nanopęcherzyków, natomiast w egzocytozie - kompleksu białkowego SNARE (ang. *soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor*) [10,11] (ryc. 1).

Wykazano, że pęcherzyki błonowe pochodzenia nowotworowego (TMV, ang. *tumour-derived microvesicles*) mogą uczestniczyć w generowaniu oporności komórek nowotworowych na leki. U niektórych pacjentów stwierdza się wówczas oporność wielolekową charakteryzującą się usuwaniem z komórki chemioterapeutyków przez wyspecjalizowane w tym celu pompy błonowe [12,13]. Inną hipotezą tłumaczącą działanie TMV na lekooporność komórek jest eliminacja leku wraz z TMV, co poparto badaniami z udziałem cisplatyny. Wykazano 2,6-krotny wzrost stężenia CDDP (ang. *cis-diamminedichloroplatinum*) w TMV uwalnianych z komórek raka jajnika opornych na leczenie w porównaniu z



Ryc.1. Schemat budowy egzozomu. Białka z rodziny Rab uczestniczą w fuzji błon oraz sekrecji egzozomów. Tetraspaniny zaś są swoistymi biomarkerami membrany komórkowej.

populacją komórek tego nowotworu wrażliwych na leczenie [14]. Podobne wnioski sformułowano w przypadku eliminacji doksorubicyny z komórek raka jajnika [15].

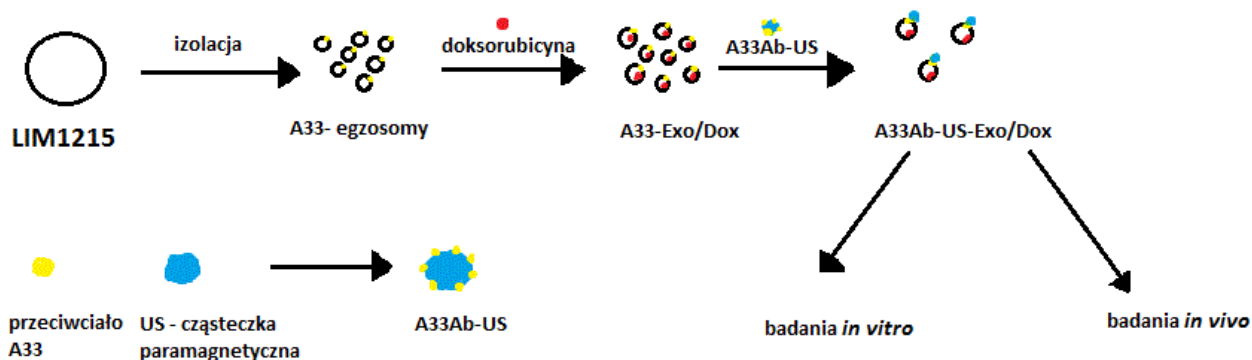
W skład egzozomu, oprócz wspomnianych wcześniej białek oraz RNA (mRNA, mikroRNA, niekodujące RNA) i DNA (ssDNA, dsDNA) wchodzi receptory głównego układu zgodności tkankowej MHC klasy I oraz MHC klasy II (występujące na egzozomach pochodzących z komórek prezentujących antygen), a także niektóre białka z rodziny tetraspanin (CD9, CD37, CD53, CD63, CD81, CD82) (ryc. 1) [16].

Dotychczasowe badania dowiodły, że egzozomy służą do transportu materiału genetycznego i białek poprzez:

1. oddziaływania receptor-ligand
2. fuzję z komórkami biorcy
3. internalizację egzocytozy - upakowanie wyżej wymienionych składników w egzozom i wydalenie nanocząstki odpowiednio oznaczonej receptorami, które posłużą do komunikacji międzykomórkowej lub określenia innego procesu, któremu ten nanopęcherzyk zostanie poddany [17].

## 2. Zastosowanie egzozomów w leczeniu raka jelita grubego

Rak jelita grubego jest jednym z najczęściej występujących nowotworów złośliwych. W Polsce w roku 2017 wystąpiło około 19 tysięcy nowych zachorowań. W Stanach Zjednoczonych obserwuje się zaś 135 tysięcy nowych zachorowań rocznie, a 50 tysięcy osób umiera corocznie z powodu tego nowotworu [18]. Najnowsze badania nad wykorzystaniem egzozomów w terapii raka jelita grubego skupiają się nad jednoczesnym umieszczeniem chemioterapeutyków we wnętrzu egzozomów oraz specyficznych przeciwciał przeciwko antygenom nowotworowym na ich powierzchni [19]. Przedmiotem ostatnich badań stało się białko A33, którego ekspresja w tym nowotworze wynosi średnio 95%, co dobrze prognozuje do wykorzystania A33 jako czynnika immunoterapeutycznego w leczeniu raka jelita grubego dobrze zróżnicowanego [20]. W biofunkcjonalnych egzozomach pokrytych przeciwciałami A33 wykazano 4-krotny wzrost wiązania tych zmodyfikowanych powierzchniowo egzozomów z komórkami nowotworowymi raka jelita grubego w porównaniu do wiązania egzozomów niezawierających przeciwciał A33 z komórkami tego nowotworu. Zatem białko A33 stanowi potencjalny cel terapeutyczny dla nowotworu jelita grubego. Badano działanie przeciwnowotworowe kompleksu zarówno *in vivo*, jak i *in vitro*. Schemat terapii przedstawiono na ryc. 2.



Ryc. 2. Sprawdzenie potencjału terapeutycznego egzozomów jako potencjalnych nośników doksorubicyny w nowotworach jelita grubego. W badaniu wykorzystano linię komórkową raka jelita grubego LIM1215, z której wyizolowano egzozomy. Zawierały one białko A33, które służy komórkom raka jelita grubego do komunikacji międzykomórkowej oraz transportu. Zapakowując w egzozomy doksorubicynę otrzymano A33-Exo/Dox, które tworzą kompleks terapeutyczny z paramagnetyczną cząsteczką (egzozomy pokryte Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) znakowaną przeciwciałami A33 (A33Ab-US-Exo/Dox) [14-16].

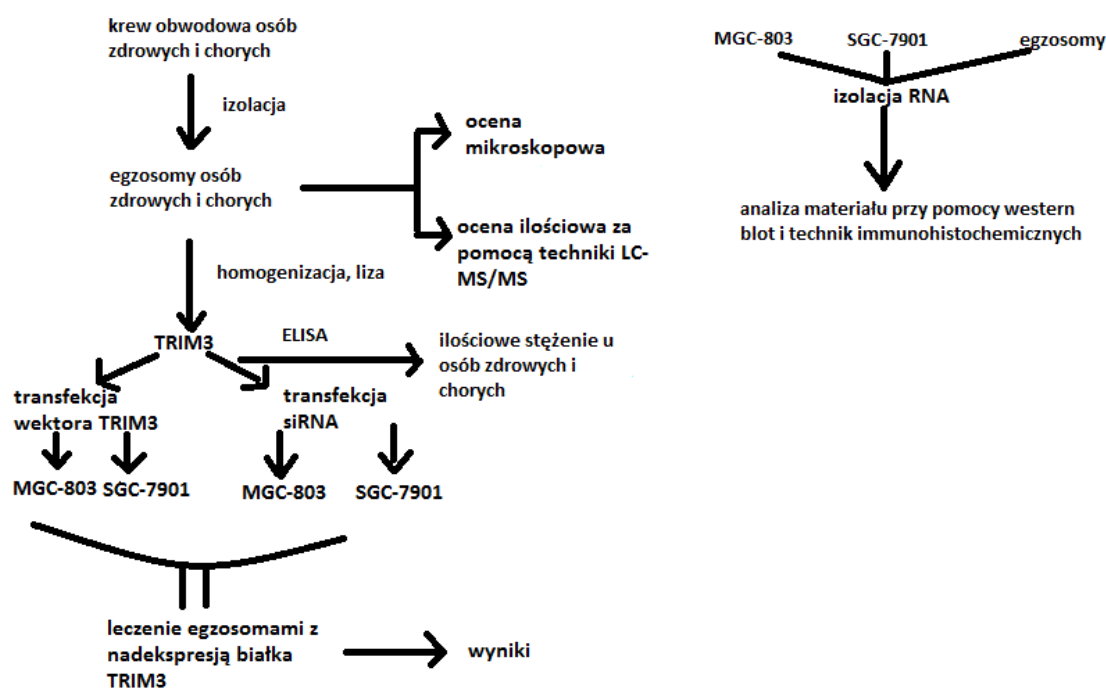
Okazało się, że dokсорubicyna bądź inny cytostatyk może być w miarę bezpiecznie i efektywnie transportowany do komórek guza, których pH mikrośrodowiska jest lekko kwasowe, bez poważnych efektów ubocznych dla organizmu. Wraz ze wzrostem stężenia kompleksu rośnie odsetek egzosomów pobieranych przez komórki nowotworowe. Wychwył komórkowy dokсорubicyny w egzosomach znacznie przewyższa wychwył leku w innej postaci, co świadczy o zwiększonej skuteczności dostarczania leku przez ten kompleks [19]. Ponadto okazało się, że ten sposób dostarczenia leku jest korzystny, ponieważ dokсорubicyna była równomiernie rozmieszczona w cytoplazmie i jądrze ludzkich komórek raka jelita grubego, a kompleks był zagnieżdżony w błonie komórkowej oraz w cytoplazmie. Kompleks ten również wykazywał największy efekt antyproliferacyjny względem dokсорubicyny, a także zwiększał działanie apoptotyczne i nekrotyczne na komórki LIM1215 [19]. W tym przypadku podjęte próby kliniczne z wykorzystaniem A33 nie potwierdziły wyników badań przedklinicznych, a za przyczynę takiego stanu uważa się brak skontrolowania ekspresji A33 u pacjentów przed rozpoczęciem próby klinicznej [20]. Zatem tworzenie nowych, bezpiecznych leków przeciwnowotworowych nadal stanowi wyzwanie, jednak to odkrycie może spowodować rewolucję w leczeniu tak częstego nowotworu, jakim jest rak jelita grubego.

### 3. Egzosomy w leczeniu i diagnostyce raka żołądka

Według szacunków WCRF (*World Cancer Research Fund*) z 2018 rak żołądka jest czwartym najczęściej występującym nowotworem, po raku płuc, piersi i jelita grubego [21]. Jednym z wyzwań podjętych w ostatnim czasie jest zbadanie roli białka TRIM3 w procesie nowotworzenia w raku żołądka [22]. TRIM3 należy do rodziny białek - ubikwitynowanych ligaz E3 typu RING [23,24]. Domena RING nadaje ubikwitynowanym białkom funkcję ligaz, a swoją

strukturą przypomina tzw. palec cynkowy. Białka TRIM zawierają 3 domeny, a ich funkcja opiera się na rozpoznaniu antygeny i regulacji transkrypcji czynników uczestniczących w obronie gospodarza. Białka TRIM są regulatorami procesów komórkowych, uczestniczą w wielu procesach naprawczych, takich jak regulacja transkrypcji, apoptoza, proliferacja i różnicowanie komórek [23,24]. W związku z przesłankami, iż niedobór białek TRIM może przyczynić się do rozwoju niektórych rodzajów nowotworów postanowiono sprawdzić, czy białka TRIM mają wpływ na rozwój raka żołądka [22]. Uproszczony schemat przeprowadzonych badań przedstawiono na ryc. 3.

Z przeprowadzonych badań wynika, że egzosomy zdrowych ludzi, jak i chorych na raka żołądka nie różnią się znacząco budową ponieważ mają podobną średnicę i zawierają podwójną warstwę lipidową [22]. Natomiast okazało się, że stężenie egzosomów jest zdecydowanie większe w surowicy pacjentów chorych na raka żołądka. Odkryto, że około 250 białek uległo ekspresji w egzosomach osób chorych na raka żołądka, a ponad 30 wykazywało różnicę w budowie wobec białek zawartych w egzosomach osób zdrowych. Ponadto okazało się, że ekspresja białka TRIM3 w egzosomach pacjentów chorych na raka żołądka jest znacznie obniżona. Jednocześnie w tej grupie pacjentów obserwowano również obniżenie ekspresji białka TRIM3 w komórkach raka żołądka. Ponadto wykazano, że działając na komórki raka żołądka egzosomami z nadekspresją TRIM3, można doprowadzić do zwiększonej ekspresji TRIM3 w komórkach nowotworowych, co w konsekwencji hamuje proliferację i migrację tychże komórek, poprzez zahamowanie ekspresji czynników proliferacyjnych. Natomiast hamowanie ekspresji TRIM3 w komórkach raka żołądka za pomocą siRNA, sprzyja ich proliferacji i migracji [22].



Ryc.3. Egzosomy jako cząstki służące poznaniu roli białka TRIM3 w procesach nowotworzenia zachodzących w żołądku. MGC-803 i SGC-7901 stanowią linie komórek raka żołądka. Po wyizolowaniu TRIM3 z krwi obwodowej, do wspomnianych linii komórkowych transfekowano egzosomy ze zwiększoną ekspresją TRIM3 w celu zwiększenia ekspresji TRIM3 oraz siRNA w celu zmniejszenia ekspresji TRIM3. Techniki western blot oraz immunohistochemiczne posłużyły do analizy ekspresji TRIM3 w badanych populacjach komórek.

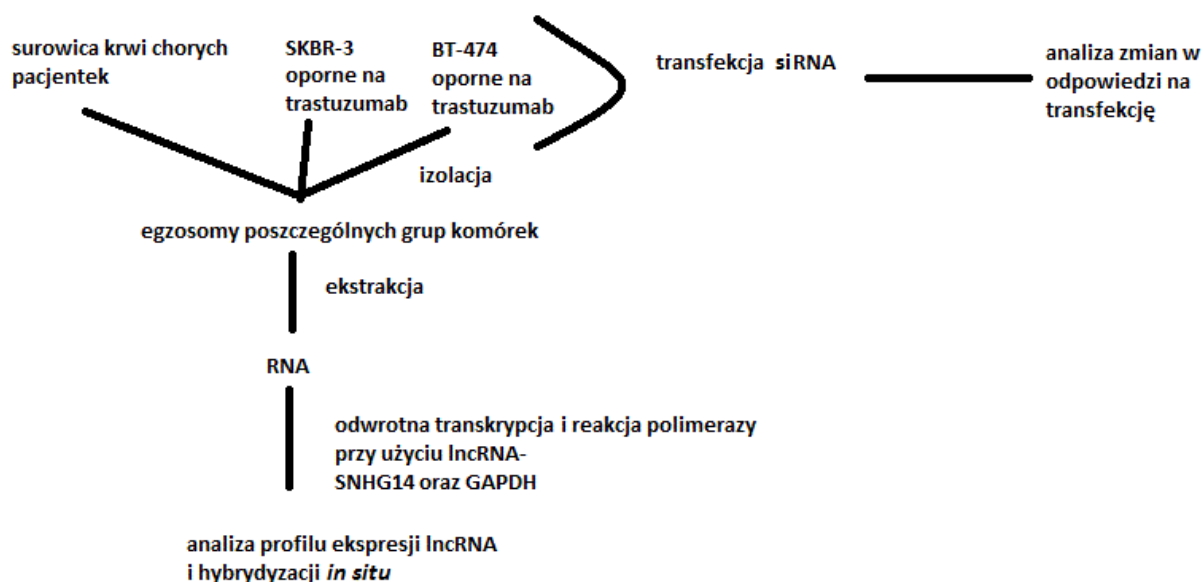
W ostatnim czasie pojawiły się kolejne badania dotyczące TRIM15 [25], które potwierdziły, że w komórkach nowotworowych dochodzi do obniżenia poziomu tych białek, co wiąże się z gorszym rokowaniem i trudniejszym leczeniem pacjenta. Konieczne są jednak dalsze badania w celu poznania dokładnych mechanizmów obniżania ekspresji białek TRIM przez komórki nowotworowe.

#### 4. Egzosomy w leczeniu i diagnostyce raka piersi

Według danych WCRF w 2012 wystąpiło aż 1,7 mln nowych przypadków zachorowań na raka piersi na całym świecie, co stanowiło aż 25% wszystkich nowotworów u kobiet [21]. Oporność guzów piersi na dostępne terapie oraz towarzyszące temu liczne przerzuty stały się główną przyczyną zgonów związanych z rakiem piersi wśród kobiet na całym świecie [26]. Szacuje się, że około 20-30% przypadków raka piersi wykazuje nadekspresję receptora ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu HER2 (*human epidermal growth factor receptor 2*), który przyczynia się do gorszej prognozy i trudniejszego leczenia [27]. W terapii HER2-dodatnich guzów piersi stosuje się obecnie najczęściej trastuzumab, dopuszczony do leczenia pod koniec lat 90 XX wieku, bądź też inne przeciwciała monoklonalne skierowane właśnie przeciw temu receptorowi. Trastuzumab jest skuteczny tylko w początkowej fazie leczenia, ponieważ jego oporność wzrasta szybko wraz z wydłużeniem okresu ekspozycji, nie jest jednak znana przyczyna tego zjawiska [28]. Badacze, wykorzystując projekt ENCODE [29] oraz inne osiągnięcia rozwoju technik sekwencjonowania genomu i transkryptomu, udowodnili, że większość DNA genomowego jest reprezentowana w transkryptach, które mogą nie ulegać translacji i wtedy stanowią niekodujące RNA (ncRNA - *non-coding RNA*). Szczególnie ważne są tzw. długie niekodujące RNA (lncRNA - *long non-coding RNA*), które składają się z ponad 200 nukleotydów. Dowiedziono, że lncRNA pełnią bardzo ważne funkcje biologiczne, odpowia-

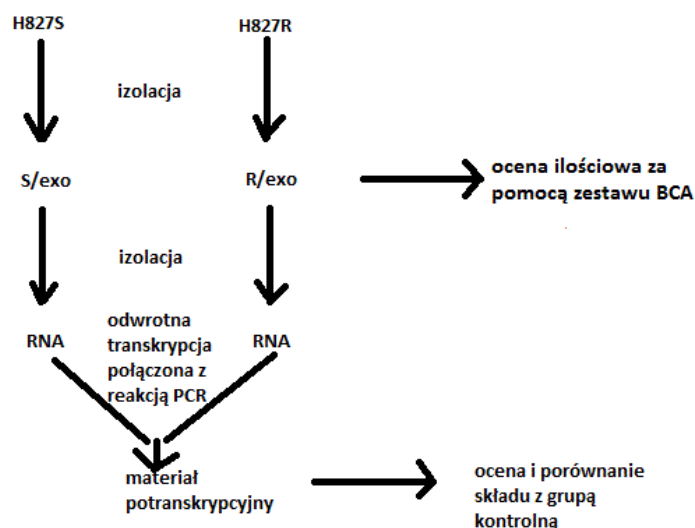
dając m.in. za regulację szlaków sygnałowych, samego procesu transkrypcji czy procesów potranskrypcyjnych [30,31]. Jak wiemy, egzosomy przenoszą zarówno białka, jak i materiał genetyczny, przeprowadzono zatem badania, czy przenoszony przez egzosomy lncRNA ma wpływ na oporność na trastuzumab oraz czy można go zastosować u pacjentów, u których wystąpiła oporność na to przeciwciało. Schemat przedstawiający proces badawczy zaprezentowano na ryc.4.

Komórki odporne na trastuzumab wykazują zmiany charakterystyczne dla EMT (*epithelial-mezenchymal transition*), w tym brak polaryzacji, co przyczynia się do charakterystycznej morfologii komórek przypominających wrzeciono, oraz wzrostu ilości podziałów komórkowych. Charakteryzuje je znacznie dłuższa żywotność w porównaniu z komórkami wrażliwymi na trastuzumab. Egzosomy wydzielane przez te komórki posiadają w swej strukturze charakterystyczne markery, jak np. CD63 czy CD81 oraz SNHG14, które w przyszłości mogą posłużyć do celów diagnostycznych i terapeutycznych. Obecnie wiele prac badawczych poświęconych jest markerowi SNHG14. Badając surowicę krwi pacjentek z rakiem piersi w różnych stopniach zaawansowania zaobserwowano podwyższony poziom SNHG14, z wyraźnym przekroczeniem normy u chorych z rozległymi przerzutami, a także zmniejszony efekt działania chemioterapii u pacjentów z opornością na trastuzumab. Przypuszcza się, że marker ten jest odpowiedzialny za oporność na trastuzumab poprzez hamowanie apoptozy komórek [32]. Co ważne pojawiły się pierwsze odkrycia mechanizmów powstawania tejże oporności [33]. Najnowsze badania dowodzą, że SNHG14 może być również odpowiedzialny za powstawanie oporności na leki w innych nowotworach, takich jak nowotwory trzustki oraz płuc [34,35].



Ryc.4. Wykorzystanie egzosomów w procesie powstawania mechanizmu oporności na trastuzumab w komórkach raka piersi oraz w potencjalnym wykorzystaniu terapeutycznym. SKBR-3 oraz BT-474 są liniami komórkowymi raka piersi, a ich oporność na trastuzumab osiągnięto przez 6-miesięczną inkubację z przeciwciałami. Transfekcję przeprowadzono z si-SNHG14#1 w celu wyciszenia lncRNA-SNHG14 aby sprawdzić, czy ten długi niekodujący RNA wpływa na oporność trastuzumabu [26,27].





Ryc.5. Schemat przedstawiający badania nad wykorzystaniem egzosomów w przeciwdziałaniu powstawania oporności komórek raka płuc na gefitynib. Populacje H827S i H827R są populacjami komórek raka płuc odpowiednio wrażliwych i opornych na gefitynib, a S/exo i R/exo wyizolowanymi egzosomami wrażliwymi i opornymi [37,38]. Oznaczenia ilościowego białek dokonano z kwasem bishinoninowym (BCA).

## 5. Egzosomy w leczeniu i diagnostyce raka płuc

Rak płuca był przyczyną zgonów 1,6 mln ludzi na świecie w 2012 roku, a według prognoz do 2035 roku ta liczba wzrośnie do 3 mln [36]. Zdecydowanie najważniejszym czynnikiem epidemiologicznym wpływającym na ryzyko zachorowania na raka płuc jest palenie tytoniu [36]. Prowadzi się obecnie wiele badań nad poprawą skuteczności terapii onkologicznej, poprzez hamowanie oporności komórek nowotworowych na dostępne obecnie farmaceutyki. Zdecydowanie najczęściej występującym typem raka płuc jest rak niedrobnokomórkowy. Coraz większą uwagę przywiązujemy się do biologii komórki i obecnych na jej powierzchni markerów diagnostycznych, takich jak TTF1, p63, EGFR [37]. Obecnie najważniejszym klinicznie markerem wydaje się być receptor naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR). W przypadku chorych na ten rodzaj nowotworu płuc z mutacją receptora naskórkowego czynnika wzrostu, jednym z głównych leków stosowanych w terapii jest gefitynib. Mechanizm powstawania oporności na ten lek pozostaje nieznan. Przeprowadzono badania oceniające rolę egzosomów w przekazywaniu oporności na gefitynib z populacji komórek opornych na populację komórek wrażliwych na ten lek [38] (schemat badania przedstawiono na ryc. 5). Okazuje się, że egzosomy przyczyniają się do wzrostu oporności na gefitynib, zmniejszając wrażliwość komórek dotychczas wrażliwych na ten lek. Ważną rolę w generowaniu oporności wydają się mieć poznane fragmenty mikroRNA, takie jak np. miR-21, który ulega nadmiernej ekspresji w wielu nowotworach złośliwych, biorąc udział w różnych procesach biologicznych, a nawet w regulacji oporności na leki [39]. Komórki wykazujące oporność na gefitynib mają zwiększoną ekspresję miR-21, natomiast hamowanie ekspresji miR-21 powodowało z kolei osłabienie oporności na lek [38]. Poszukuje się również nowych związków o charakterze inhibitorów EGFR [40] a także mechanizmów odpowiedzialnych za powstawanie oporności na inhibitory EGFR [41,42].

## 6. Podsumowanie

Nowotwory stanowią w dzisiejszych czasach istotny problem diagnostyczny i terapeutyczny. Liczba nowych zachorowań u mężczyzn i kobiet może ulec zwiększeniu, zwłaszcza u osób w przedziale wiekowym 20-44 lata [43]. Szacuje się, że rak jelita grubego dotknie zdecydowanie częściej osoby w średnim i starszym wieku, z kolei liczba nowotworów piersi wzrośnie do 2025 roku w każdej z grup wiekowych. Natomiast według najnowszych prognoz śmiertelność na raka żołądka u obu płci ma się znacząco zmniejszyć, a największe spadki mają być odnotowane w przedziale wiekowym 30-44 lata. Pomimo dość zaawansowanych metod terapeutycznych, wciąż brakuje odpowiednich markerów, które w sposób jednoznaczny byłyby w stanie zidentyfikować proces nowotworowy. W niniejszej pracy przytoczono badania, które mogą stać się w przyszłości schematami diagnozy i leczenia nowotworów z udziałem egzosomów. Wydaje się, że egzosomy mogą być wykorzystywane jako efektywne nośniki leków w celowanej terapii przeciwnowotworowej.

## 7. Wykaz skrótów

BCA	<i>bicinchoninic acid assay</i> , metoda Smitha z wykorzystaniem kwasu bishinoninowego
CDDP	<i>cis-diamminedichloroplatinum</i> , <i>cis-diaminodichloroplatyna</i> , <i>cisplatyna</i>
EGFR	<i>epidermal growth factor receptor</i> , naskórkowy czynnik wzrostu
EMT	<i>epithelial-mezenchymal transition</i> , przejście nabłonkowo - mezenchymalne
ESCRT	<i>endosomal sorting complex required for transport</i> , endosomalny kompleks sortujący
HER2	<i>human epidermal growth factor receptor</i> , receptor 2 ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu
lncRNA	<i>long non-coding RNA</i> , długie niekodujące RNA
MDR	<i>multiple drug resistance</i> , wielolekooporność
ncRNA	<i>non-coding RNA</i> , niekodujące RNA
siRNA	<i>small interfering RNA</i> , małe interferujące RNA

SNARE	<i>soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor</i> , transblonowy kompleks białkowy
TMV	<i>tumour-derived microvesicles</i> , pęcherzyki błonowe pochodzenia nowotworowego
TRIM	<i>tripartite motif-containing protein</i> , trójdomenowe białko zawierające motywy

## 8. Bibliografia

- Yanez-Mo M, Siljander PR, Andreu Z, Zavec AB, Borrás FE, Buzas EI, Buzas K, Casal E, Cappello F, Carvalho J, Colas E, Cordeiro-da Silva A, Fais S, Falcon-Perez JM, Ghobrial IM, Giebel B, Gimona M, Graner M, Gursel I, Gursel M, Heegaard NH, Hendrix A, Kierulf P, Kokubun K, Kosanovic M, Kralj-Iglic V, Kramer-Albers EM, Laitinen S, Lasser C, Lener T, Ligeti E, Line A, Lipps G, Llorente A, Lotvall J, Mancek-Keber M, Marcilla A, Mittelbrunn M, Nazarenko I, Nolte-t Hoen EN, Nyman TA, O'Driscoll L, Olivan M, Oliveira C, Pallinger E, Del Portillo HA, Reventos J, Rigau M, Rohde E, Sammar M, Sanchez-Madrid F, Santarem N, Schallmoser K, Ostenfeld MS, Stoorvogel W, Stukelj R, Van der Grein SG, Vasconcelos MH, Wauben MH, De Wever O, Biological properties of extracellular vesicles and their physiological functions, *J Extracell Vesicles*, 2015, 4, 27066.
- Huebner AR, Somparn P, Benjachat T, Leelahavanichkul A, Avihing-sanon Y, Fenton RA, Pisitkun T, Exosomes in urine biomarker discovery, *Adv Exp Med Biol*, 2015, 845, 43-58.
- Nonaka T, Wong DTW, Saliva-exosomics in cancer: molecular characterization of cancer-derived exosomes in saliva, *Enzymes*, 2017, 42, 125-151.
- Koh YQ, Peiris HN, Vaswani K, Meier S, Burke CR, Macdonald KA, Roche JR, Almuhammad F, Arachchige BJ, Reed S, Mitchell MD, Characterization of exosomes from body fluids of dairy cows, *J Anim Sci*, 2017, 95, 3893-3904.
- Wolf P, The nature and significance of platelet products in human plasma, *Br J Haematol*, 1967, 13, 269-288.
- Pan BT, Teng K, Wu C, Adam M, Johnstone RM, Electron microscopic evidence for externalization of the transferrin receptor in vesicular form in sheep reticulocytes, *J Cell Biol*, 1985, 101, 942-948.
- Zhang J, Li S, Li L, Li M, Guo C, Yao J, Mi S, Exosome and exosomal microRNA: trafficking, sorting, and function, *Genomics Proteomics Bioinformatics*, 2015, 13, 17-24.
- Johnstone RM, The Jeanne Manery-Fisher Memorial Lecture 1991. Maturation of reticulocytes: formation of exosomes as a mechanism for shedding membrane proteins, *Biochem Cell Biol*, 1992, 70, 179-190.
- Théry C, Witwer KW, Aikawa E, Alcaraz MJ, Anderson JD, Andriantsitohaina R, Antoniou A, Arab T, Archer F, Atkin-Smith GK, Ayre DC, Bach JM, Bachurski D, Baharvand H, Balaj L, Baldacchino S, Bauer NN, Baxter AA, Bebawy M, Beckham C, Bedina Zavec A, Benmoussa A, Berardi AC, Bergese P, Bielska E, Blenkiron C, Bobis-Wozowicz S, Boilard E, Boireau X, Bongiovanni A, Borrás FE, Bosch S, Boulanger CM, Breakfield X, Breglio AM, Brennan M, Brigstock DR, Brisson A, Broekman ML, Bromberg JF, Bryl-Górecka P, Buch S, Buck AH, Burger D, Busatto S, Buschmann D, Bussolati B, Buzás EI, Byrd JB, Camussi G, Carter DR, Caruso S, Chamley LW, Chang YT, Chen C, Chen S, Cheng L, Chin AR, Clayton A, Clerici SP, Cocks A, Cocucci E, Coffey RJ, Cordeiro-da-Silva A, Couch Y, Coumans FA, Coyle B, Crescitelli R, Criado MF, D'Souza-Schorey C, Das S, Datta Chaudhuri A, de Candia P, De Santana EF, De Wever O, Del Portillo HA, Demaret T, Deville S, Devitt A, Dhondt B, Di Vizio D, Dieterich LC, Dolo V, Dominguez Rubio AP, Dominici M, Dourado MR, Driedonks TA, Duarte FV, Duncan HM, Eichenberger RM, Ekström K, El Andaloussi S, Elie-Caille C, Erdbrügger U, Falcón-Pérez JM, Fatima F, Fish JE, Flores-Bellver M, Förstner A, Frelet-Barrand A, Fricke F, Fuhrmann G, Gabrielsson S, Gámez-Valero A, Gardiner C, Gärtner K, Gaudin R, Gho YS, Giebel B, Gilbert C, Gimona M, Giusti I, Goberdhan DC, Görgens A, Gorski SM, Greening DW, Gross JC, Gualerzi A, Gupta GN, Gustafson D, Handberg A, Haraszti RA, Harrison P, Hegyesi H, Hendrix A, Hill AF, Hochberg FH, Hoffmann KF, Holder B, Holthofer H, Hosseinkhani B, Hu G, Huang Y, Huber V, Hunt S, Ibrahim AG, Ikezu T, Inal JM, Isin M, Ivanova A, Jackson HK, Jacobsen S, Jay SM, Jayachandran M, Jenster G, Jiang L, Johnson SM, Jones JC, Jong A, Jovanovic-Talisman T, Jung S, Kalluri R, Kano SI, Kaur S, Kawamura Y, Keller ET, Khamari D, Khomyakova E, Khvorova A, Kierulf P, Kim KP, Kistinger T, Klingeborn M, Klink DJ, Kornek M, Kosanović MM, Kovács Á, Krämer-Albers EM, Krasemann S, Krause M, Kurochkin IV, Kusuma GD, Kuypers S, Laitinen S, Langevin SM, Languino LR, Lannigan J, Lässer C, Laurent LC, Lavieu G, Lázaro-Ibáñez E, Le Lay S, Lee MS, Lee YXF, Lemos DS, Lenassi M, Leszczynska A, Li IT, Liao K, Libregts SF, Ligeti E, Lim R, Lim SK, Linē A, Linnemannstöns K, Llorente A, Lombard CA, Lorenowicz MJ, Lörcincz Á, Lötvall J, Lovett J, Lowry MC, Loyer X, Lu Q, Lukomska B, Lunavat TR, Maas SL, Malhi H, Marcilla A, Mariani J, Mariscal J, Martens-Uzunova ES, Martin-Jaular L, Martinez MC, Martins VR, Mathieu M, Mathivanan S, Maugeri M, McGinnis LK, McVey MJ, Meckes DG, Meehan KL, Mertens I, Minciaccchi VR, Möller A, Møller Jørgensen M, Morales-Kastresana A, Morhayim J, Mullier F, Muraca M, Musante L, Mussack V, Muth DC, Myburgh KH, Najrana T, Nawaz M, Nazarenko I, Nejsup P, Neri C, Neri T, Nieuwland R, Nimrichter L, Nolan JP, Nolte-t Hoen EN, Noren Hooten N, O'Driscoll L, O'Grady T, O'Loughlin A, Ochiai T, Olivier M, Ortiz A, Ortiz LA, Osteikoetxea X, Østergaard O, Ostrowski M, Park J, Pegtel DM, Peinado H, Perut F, Pfaffl MW, Phinney DG, Pieters BC, Pink RC, Pisetsky DS, Pogge von Strandmann E, Polakovicova I, Poon IK, Powell BH, Prada I, Pulliam L, Quesenberry P, Radeghieri A, Raffai RL, Raimondo S, Rak J, Ramirez MI, Raposo G, Rattan MS, Regev-Rudziński N, Rieckels FL, Robbins PD, Roberts DD, Rodrigues SC, Rohde E, Rome S, Rouschop KM, Rugheiti A, Russell AE, Saá P, Sahoo S, Salas-Huenuleo E, Sánchez C, Saugstad JA, Saul MJ, Schiffelers RM, Schneider R, Schøyen TH, Scott A, Shahaj E, Sharma S, Shatnyeva O, Shekari F, Shelke GV, Shetty AK, Shiba K, Siljander PR, Silva AM, Skowronek A, Snyder OL, Soares RP, Sódar BW, Soekmadji C, Sotillo J, Stahl PD, Stoorvogel W, Stott SL, Strasser EF, Swift S, Tahara H, Tewari M, Timms K, Tiwari S, Tixeira R, Tkach M, Toh WS, Tomasini R, Torrecilhas AC, Tosar JP, Toxavidis V, Urbanelli L, Vader P, van Balkom BW, van der Grein SG, Van Deun J, van Herwijnen MJ, Van Keuren-Jensen K, van Niel G, van Royen ME, van Wijnen AJ, Vasconcelos MH, Vechetti IJ, Veit TD, Vella LJ, Velot É, Verweij FJ, Vestad B, Viñas JL, Visnovitz T, Vukman KV, Wahlgren J, Watson DC, Wauben MH, Weaver A, Webber J, Weber V, Wehman AM, Weiss DJ, Welsh JA, Wendt S, Wheelock AM, Wiener Z, Witte L, Wolfram J, Xagorari A, Xander P, Xu J, Yan X, Yáñez-Mó M, Yin H, Yuana Y, Zappulli V, Zarubova J, Žekas V, Zhang JY, Zhao Z, Zheng L, Zheutlin AR, Zickler AM, Zimmermann P, Zivkovic AM, Zocco D, Zuba-Surma EK, Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines, *J Extracell Vesicles*, 2018, 7, 1535750.
- Hessvik NP, Llorente A, Current knowledge on exosome biogenesis and release, *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75, 193-208.
- Wójtowicz A, Baj-Krzyworzeka M, Baran J, Characterization and biological role of extracellular vesicles, *Postepy hig med dosw (Online)*, 2014, 68, 1421-1432.
- Ambudkar SV, Sauna ZE, Gottesman MM, Szakacs G, A novel way to spread drug resistance in tumor cells: functional intercellular transfer of P-glycoprotein (ABCB1), *Trends Pharmacol Sci*, 2005, 26, 385-387.
- Filipazzi P, Burdek M, Villa A, Rivoltini L, Huber V, Recent advances on the role of tumor exosomes in immunosuppression and disease progression, *Semin Cancer Biol*, 2012, 22, 342-349.
- Safaei R, Larson BJ, Cheng TC, Gibson MA, Otani S, Naerdemann W, Howell SB, Abnormal lysosomal trafficking and enhanced exosomal export of cisplatin in drug-resistant human ovarian carcinoma cells, *Mol Cancer Ther*, 2005, 4, 1595-1604.
- Shedden K, Xie XT, Chandaroy P, Chang YT, Rosania GR, Expulsion of small molecules in vesicles shed by cancer cells: association with gene expression and chemosensitivity profiles, *Cancer Res*, 2003, 63, 4331-4337.
- Wang Y, Zhang D, Wu K, Zhao Q, Nie Y, Fan D, Long noncoding RNA MRUL promotes ABCB1 expression in multidrug-resistant gastric cancer cell sublines, *Mol Cell Biol*, 2014, 34, 3182-3193.
- Tkach M, Théry C, Communication by extracellular vesicles: where we are and where we need to go, *Cell*, 2016, 164, 1226-1232.
- Siegel RL, Miller KD, Fedewa SA, Ahnen DJ, Meester RGS, Barzi A, Jemal A, Colorectal cancer statistics, 2017, *CA Cancer J Clin*, 2017, 67, 177-193.
- Li Y, Gao Y, Gong C, Wang Z, Xia Q, Gu F, Hu C, Zhang L, Guo H, Gao S, A33 antibody-functionalized exosomes for targeted delivery

- of doxorubicin against colorectal cancer, *Nanomedicine*, 2018, 14, 1973-1985.
20. Baptistella AR, Salles Dias MV, Aguiar S, Begnami MD, Martins VR, Heterogeneous expression of A33 in colorectal cancer: possible explanation for A33 antibody treatment failure, *Anticancer Drugs*, 2016, 27, 734-737.
  21. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A, Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries, *CA Cancer J Clin*, 2018.
  22. Fu H, Yang H, Zhang X, Wang B, Mao J, Li X, Wang M, Zhang B, Sun Z, Qian H, Xu W, Exosomal TRIM3 is a novel marker and therapy target for gastric cancer, *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37, 162.
  23. Hatakeyama S, TRIM family proteins: roles in autophagy, immunity, and carcinogenesis, *Trends Biochem Sci*, 2017, 42, 297-311.
  24. Watanabe M, Hatakeyama S, TRIM proteins and diseases, *J Biochem*, 2017, 161, 135-144.
  25. Chen W, Lu C, Hong J, TRIM15 exerts anti-tumor effects through suppressing cancer cell invasion in gastric adenocarcinoma, *Med Sci Monit*, 2018, 24, 8033-8041.
  26. Gonzalez-Angulo AM, Morales-Vasquez F, Hortobagyi GN, Overview of resistance to systemic therapy in patients with breast cancer, *Adv Exp Med Biol*, 2007, 608, 1-22.
  27. Vu T, Claret FX, Trastuzumab: updated mechanisms of action and resistance in breast cancer, *Front Oncol*, 2012, 2, 62.
  28. Donepudi MS, Kondapalli K, Amos SJ, Venkateshan P, Breast cancer statistics and markers, *J Cancer Res Ther*, 2014, 10, 506-511.
  29. Consortium EP, An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome, *Nature*, 2012, 489, 57-74.
  30. Li P, Zhang X, Wang H, Wang L, Liu T, Du L, Yang Y, Wang C, MALAT1 is associated with poor response to oxaliplatin-based chemotherapy in colorectal cancer patients and promotes chemoresistance through EZH2, *Mol Cancer Ther*, 2017, 16, 739-751.
  31. Schmitt AM, Chang HY, Long noncoding RNAs in cancer pathways, *Cancer Cell*, 2016, 29, 452-463.
  32. Dong H, Wang W, Chen R, Zhang Y, Zou K, Ye M, He X, Zhang F, Han J, Exosome-mediated transfer of lncRNA-SNHG14 promotes trastuzumab chemoresistance in breast cancer, *Int J Oncol*, 2018, 53, 1013-1026.
  33. Dong H, Wang W, Mo S, Liu Q, Chen X, Chen R, Zhang Y, Zou K, Ye M, He X, Zhang F, Han J, Hu J, Long non-coding RNA SNHG14 induces trastuzumab resistance of breast cancer via regulating PABPC1 expression through H3K27 acetylation, *J Cell Mol Med*, 2018, 22, 4935-4947.
  34. Zhang X, Zhao P, Wang C, Xin B, SNHG14 enhances gemcitabine resistance by sponging miR-101 to stimulate cell autophagy in pancreatic cancer, *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 9, 508-514.
  35. Zhang Z, Wang Y, Zhang W, Li J, Liu W, Lu W, Long non-coding RNA SNHG14 exerts oncogenic functions in non-small cell lung cancer through acting as an miR-340 sponge, *Biosci Rep*, 2019, 3, 39.
  36. Didkowska J, Wojciechowska U, Mańczuk M, Łobaszewski J, Lung cancer epidemiology: contemporary and future challenges worldwide, *Ann Transl Med*, 2016, 4, 150.
  37. Kutkowska J, Porębska I, Rapak A, Non-small cell lung cancer - mutations, targeted and combination therapy, *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 2017, 71, 431-445.
  38. Jing C, Cao H, Qin X, Yu S, Wu J, Wang Z, Ma R, Feng J, Exosome-mediated gefitinib resistance in lung cancer HCC827 cells via delivery of miR-21, *Oncol Lett*, 2018, 15, 9811-9817.
  39. Ziyang W, Yang L, MicroRNA-21 regulates the sensitivity to cisplatin in a human osteosarcoma cell line, *Ir J Med Sci*, 2016, 185, 85-91.
  40. Yu X, Zhao X, Zhang J, Li Y, Sheng P, Ma C, Zhang L, Hao X, Zheng X, Xing Y, Qiao H, Qu L, Zhu D, Dacomitinib, a new pan-EGFR inhibitor, is effective in attenuating pulmonary vascular remodeling and pulmonary hypertension, *Eur J Pharmacol*, 2019, 5, 850-897.
  41. Yamaguchi O, Kaira K, Mouri A, Shiono A, Hashimoto K, Miura Y, Nishihara F, Murayama Y, Kobayashi K, Kagamu H, Re-challenge of afatinib after 1st generation EGFR-TKI failure in patients with previously treated non-small cell lung cancer harboring EGFR mutation, *Cancer Chemother Pharmacol*, 2019, 83(5), 817-825.
  42. Ko B, Halmos B, Capmatinib and gefitinib combination therapy: will EGFR-mutated MET-dysregulated NSCLC "capitulate"?, *Transl Lung Cancer Res*, 2018, 7, S321-S325.
  43. Didkowska J WU, Zatoński W, Prognozy zachorowalności i umieralności na nowotwory złośliwe w Polsce do 2025 roku. 2009, Warszawa: Centrum Onkologii. Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie.