

WNIOSEK PROJEKTU DOKTORSKIEGO
Szkoła Doktorska Nauk Medycznych i Nauk o Zdrowiu

IMIĘ I NAZWISKO AUTORA PROJEKTU	Agnieszka Żuryń
AFILIACJA AUTORA PROJEKTU (jednostka organizacyjna, telefon kontaktowy, adres e-mail)	Wydział Lekarski, Katedra Histologii i Embriologii, 510-159-665; azuryn@cm.umk.pl
DYSCYPLINA NAUKOWA, W RAMACH KTÓREJ PROJEKT BĘDZIE REALIZOWANY (zaznaczyć właściwą)	☐ NAUKI FARMACEUTYCZNE ☒ NAUKI MEDYCZNE ☐ NAUKI O ZDROWIU

CZĘŚĆ A:
OPIS PROJEKTU

1. TEMAT PROJEKTU:
Przesiewowa ocena aktywności biologicznej skojarzeń inhibitorów CDK z substancjami o działaniu cytotoksycznym.
2. STRESZCZENIE PROJEKTU (max. 1000 znaków ze spacjami):
Projekt ma charakter badań przesiewowych, których celem jest identyfikacja nowych, skutecznych skojarzeń selektywnych inhibitorów kinaz cyklinozależnych (CDK) z lekami cytotoksycznymi. Zakres badań obejmuje inhibitory kinaz zaangażowanych w regulację cyklu komórkowego (CDK4/6, CDK1), kontrolę transkrypcji (CDK7, CDK9) oraz kinazy atypowe o wyłaniającym się potencjale onkogennym (CDK17). Aktywność biologiczna badanych skojarzeń zostanie oceniona przy użyciu testów przeżywalności komórek, analizy apoptozy i dystrybucji cyklu komórkowego oraz charakterystyki ekspresji kluczowych białek sygnałowych. Wytypowane kombinacje synergistyczne mogą w przyszłości stanowić podstawę innowacyjnych strategii terapii skojarzonych — pozwalających na zwiększenie skuteczności leczenia przy jednoczesnej redukcji toksyczności systemowej.
3. CEL NAUKOWY PROJEKTU I ZNACZENIE PODJĘTEGO PROBLEMU BADAWCZEGO (max. 3000 znaków ze spacjami):

Celem niniejszego projektu jest identyfikacja nowych strategii leczenia nowotworów z zastosowaniem selektywnych inhibitorów kinaz cyklinozależnych w terapii skojarzonej. W przypadku znalezienia kombinacji o działaniu synergistycznym celem uzupełniającym będzie molekularna charakterystyka mechanizmu odpowiadającego za obserwowany efekt. Kontrola cyklu komórkowego sprawowana jest przez kompleksy złożone z cyklin i kinaz cyklinozależnych (CDK), których rozregulowanie stanowi cechę charakterystyczną większości nowotworów złośliwych. Do chwili obecnej inhibitory CDK (CDKI) — w szczególności blokujące aktywność enzymów CDK4 i CDK6 (CDK4/6) — zostały zatwierdzone przez FDA do leczenia przerzutowego raka piersi. Jednakże ze względu na brak selektywności i znaczną toksyczność większość inhibitorów CDK pierwszej generacji (tzw. inhibitory pan-CDK działające na kilka CDK) nie znalazła zastosowania w praktyce klinicznej. Poczyniono jednak znaczący postęp, aby umożliwić wykorzystanie tych związków w warunkach klinicznych, a wdrożenie strategii terapii skojarzonej pozwoliło na istotne zmniejszenie ich toksyczności i ograniczenie działań niepożądanych. Rosnące zainteresowanie selektywnymi inhibitorami CDK wynika z ich korzystniejszego profilu bezpieczeństwa — zachowanego przy szerokim spektrum działania, co wynika z faktu, że poszczególne kinazy regulują wiele procesów komórkowych, a ich nadmierna aktywność może napędzać progresję nowotworu. Inhibitory CDK4/6 skutecznie blokują fosforylację białka Rb, zatrzymując cykl komórkowy w fazie G1/S i hamując proliferację Rb-dodatnich komórek nowotworowych. CDK9, odpowiedzialna za elongację transkrypcji i dojrzewanie mRNA, stanowi obiecujący cel terapeutyczny w nowotworach charakteryzujących się rozregulowaniem transkrypcji onkogennej. Podobną rolę w regulacji transkrypcji pełni CDK7 — kluczowy składnik kompleksu TFIIF i kinaza aktywująca inne CDK — której nadekspresja opisywana jest w licznych nowotworach litych, a inhibitory CDK7, takie jak THZ1 czy samuraciclib, wykazują obiecującą aktywność przeciwnowotworową w modelach przedklinicznych. Wartą uwagi jest również CDK17 (PCTAIRE2) — kinaza z grupy atypowych CDK, której wzmożona ekspresja stwierdzana jest w wybranych nowotworach i która może modyfikować wrażliwość komórek na leki cytotoksyczne, choć jej dokładna rola w onkogenezie pozostaje słabo poznana. Jednoczesna supresja kilku onkogennych szlaków — nawet częściowa — istotnie zwiększa szansę na uwrażliwienie komórek na działanie leków skutecznych dotychczas jedynie w monoterapii. Potwierdzają to przykłady kliniczne: palbocyclib (inhibitor CDK4/6) skojarzony z fulwestrantem lub letrozolem wykazuje wyraźnie wyższą skuteczność niż każdy z tych leków stosowany osobno. Badania in vitro wskazują ponadto na synergizm inhibitorów CDK8 z inhibitorami MEK oraz inhibitorów CDK1 z sorafenibem. Poszukiwanie nowych, skutecznych skojarzeń oraz szczegółowy opis ich mechanizmów działania stanowią zatem kluczowy krok w procesie wprowadzania selektywnych inhibitorów CDK do praktyki onkologicznej.

4. KONCEPCJA I PLAN BADAŃ Z UWZGLĘDNIENIEM METODYKI (max. 4000 znaków ze spacjami):

Koncepcja badań: Badania będą miały charakter przesiewowy i w pierwszej fazie nie będą ograniczone do konkretnego typu nowotworu. Na podstawie analizy piśmiennictwa dokonany zostanie dobór kilku selektywnych inhibitorów CDK stosowanych klinicznie lub posiadających status kandydata lekowego. Następnie, po wyznaczeniu zakresów aktywnych dawek w testach przeżywalności, inhibitory kinaz zostaną skojarzone z lekami przeciwnowotworowymi charakteryzującymi się ograniczoną skutecznością w monoterapii lub wobec których szybko rozwija się oporność — takimi jak cisplatyna, 5-fluorouracyl, temozolomid czy trójtlenek arsenu. Dla każdego skojarzenia zostanie oceniony charakter interakcji farmakologicznej: efekt synergistyczny, addytywny lub antagonistyczny. Kombinacje wykazujące synergizm zostaną

następnie poddane pogłębionej analizie molekularnej, obejmującej charakterystykę zmian zachodzących w komórkach pod wpływem obu substancji stosowanych łącznie i oddzielnie.

Metodyka badań będzie obejmowała:

1. Ocenę przeżywalności komórek za pomocą testu MTT i CCK8
2. Ocenę odsetka komórek apoptotycznych za pomocą barwienia Aneksyną V
3. Określenie zmian w dystrybucji cyklu komórkowego za pomocą barwienia jodkiem propidyny
4. Wykorzystanie barwienia immunofluorescencyjnego w celu oceny zmian ekspresji i lokalizacji białek zaangażowanych w odpowiedź komórek na leczenie
5. Półilościową ocenę ekspresji protein za pomocą metody Western Blot
6. Ocenę zdolności komórek do migracji i inwazji za pomocą przyżyciowej obserwacji mikroskopowej, a także testy na insertach bez matrigelu i z matrigelem

5. SPODZIEWANE ZNACZENIE WYNIKÓW BADAŃ Z OKREŚLENIEM WPLYWU NA ROZWÓJ DYSCYPLINY (max. 1500 znaków ze spacjami):

Realizacja projektu może przyczynić się do identyfikacji nowych kombinacji substancji przeciwnowotworowych kwalifikujących się do dalszych badań in vivo, a w perspektywie — do zastosowania klinicznego. Istotną wartością dodaną projektu jest wkład poznawczy: selektywne inhibitory CDK pozostają stosunkowo słabo scharakteryzowane pod względem molekularnych mechanizmów działania, zwłaszcza w kontekście terapii skojarzonej. Uzyskane wyniki mogą zatem wzbogacić wiedzę o biologii tych związków, stanowić podstawę dla dalszych hipotez badawczych oraz uzasadnić wnioskowanie o finansowanie zewnętrzne.

6. PLANOWANA FORMA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ



MANUSKRYPT – tradycyjna forma rozprawy nieopublikowanej



CYKL PUBLIKACJI – spójny tematycznie zbiór opublikowanych artykułów



TRYB HYBRYDOWY – spójny tematycznie zbiór opublikowanych artykułów i nieopublikowanych manuskryptów

