

WNIOSEK PROJEKTU DOKTORSKIEGO
Szkoła Doktorska Nauk Medycznych i Nauk o Zdrowiu

IMIĘ I NAZWISKO AUTORA PROJEKTU	Prof. dr hab. Anna Bajek
AFILIACJA AUTORA PROJEKTU (jednostka organizacyjna, telefon kontaktowy, adres e-mail)	Katedra Onkologii 52 585 58 27 a.bajek@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:
Modulacja mikrobiomu jelitowego jako strategia wspomagająca celowane terapie raka piersi
2. STRESZCZENIE PROJEKTU (max. 1000 znaków ze spacjami):
Badania w ramach proponowanego projektu obejmują analizę mikrobiomu jelitowego i metabolomu u pacjentek z rakiem piersi w celu identyfikacji biomarkerów przewidujących odpowiedź na dedykowane terapie, z zastosowaniem technik sekwencjonowania i profilowania metabolomicznego. Podstawowe cele obejmują charakterystykę składu flory bakteryjnej jelit i metabolomu pacjentek, a także korelację uzyskanych wyników z danymi klinicznymi pozwalając na opracowanie modelu predykcyjnego. Metody badawcze, zaplanowane na 4 lata, obejmują rekrutację pacjentek, pobieranie próbek materiału biologicznego na różnych etapach leczenia, analizę mikrobiomu i metabolomu, a także bankowanie materiału biologicznego. Uzyskane wyniki będą miały potencjał do zmiany strategii terapeutycznej w raku piersi, a także poprawę długoterminowych wyników oraz jakości życia pacjentek. Mogą również przyczynić się do głębszego zrozumienia interakcji pacjent-mikrobiom, identyfikacji nowych ścieżek metabolicznych oraz rozwoju innowacyjnych terapii.
3. CEL NAUKOWY PROJEKTU I ZNACZENIE PODJĘTEGO PROBLEMU BADAWCZEGO (max. 3000 znaków ze spacjami):
Głównym celem naukowym projektu jest charakterystyka mikrobiomu jelitowego i metabolomu u pacjentek z rakiem piersi oraz identyfikacja biomarkerów mikrobiomowych i metabolomicznych, które mogą przewidywać odpowiedź na terapie przeciwnowotworowe.

Flora bakteryjna jelit, zwana także mikrobiomem jelitowym, odgrywa kluczową rolę w funkcjonowaniu organizmu człowieka, zyskuje też coraz większe uznanie jako istotny modulator procesów fizjologicznych, patologicznych oraz odpowiedzi na terapię. Badania ostatnich lat wskazują na istnienie osi jelitowo-nowotworowej, gdzie skład mikrobiomu może determinować skuteczność immunoterapii, chemioterapii czy terapii celowanych. Różny skład mikrobioty jelitowej może wpływać nie tylko na odpowiedź na zastosowane leczenie, ale także modulować odpowiedź immunologiczną oraz procesy zapalne, kluczowe w patogenezie nowotworów.

Problem badawczy projektu doktorskiego koncentruje się na identyfikacji korelacji między profilem mikrobiomu jelitowego, metabolomem a kliniczną odpowiedzią na terapię raka piersi. Systematyczna analiza próbek kału/wymazów rektalnych oraz krwi od pacjentek z rakiem piersi, skorelowana z danymi klinicznymi, pozwoli na zidentyfikowanie mikroorganizmów i metabolitów potencjalnie wpływających na skuteczność leczenia. Mimo rosnącej liczby badań nad mikrobiomem, wciąż brakuje usystematyzowanej wiedzy na temat specyficznych sygnatur mikrobiomowych i metabolomicznych związanych z odpowiedzią na leczenie przeciwnowotworowe, szczególnie w odniesieniu do raka piersi.

Cele szczegółowe projektu obejmują:

1. Charakterystykę profilu mikrobiomu jelitowego u pacjentek z rakiem piersi na różnych etapach leczenia,
2. Analizę metabolomu pacjentek i jego korelację ze składem mikrobiomu,
3. Identyfikację szczepów bakteryjnych i metabolitów związanych z lepszą odpowiedzią na terapię,
4. Wyodrębnienie biomarkerów mikrobiomowych i metabolomicznych pozwalających przewidywać skuteczność leczenia,
5. Opracowanie modelu predykcyjnego odpowiedzi na leczenie w oparciu o profil mikrobiomu i metabolom.

Podjęty problem badawczy niesie ze sobą istotne znaczenie w kilku kluczowych wymiarach. W pierwszej kolejności, należy podkreślić, że rak piersi utrzymuje pozycję najczęściej diagnozowanego nowotworu złośliwego wśród kobiet, a pomimo znaczących postępów w leczeniu, wciąż istnieje pilna potrzeba opracowania narzędzi umożliwiających przewidywanie odpowiedzi na zastosowaną terapię i jej personalizację. Równie istotny jest fakt, że analiza mikrobiomu i metabolomu jest nieinwazyjnym podejściem diagnostycznym o potencjalnie wysokiej wartości predykcyjnej, mogącym stanowić wartościowy i nowatorski element precyzyjnej stratyfikacji pacjentek i indywidualizację schematów leczniczych.

Identyfikacja biomarkerów mikrobiomowych i metabolomicznych związanych z odpowiedzią na leczenie może w przyszłości umożliwić opracowanie strategii modulacji mikrobiomu, stanowiących uzupełnienie standardowych protokołów terapeutycznych w raku piersi.

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

Etapy badań planowane w projekcie:

1. Rekrutacja pacjentek i gromadzenie danych klinicznych

Rekrutacja pacjentek z rakiem piersi odbywać będzie się w CO im. prof. F. Łukaszczyka w Bydgoszczy w oparciu o ściśle określone kryteria włączenia i wyłączenia. Podstawowym wymogiem uczestnictwa będzie histopatologicznie potwierdzony rak piersi oraz molekularna stratyfikacja pacjentek. Każda zrekrutowana pacjentka otrzyma kompleksową informację o celach badania i wymaganych procedurach. Proces świadomej zgody będzie prowadzony z należytą starannością.

2. Pobieranie materiału biologicznego

A. Próbki kału/wymazy rektalne:

Od każdej pacjentki pobrana zostanie próbka kału w różnych punktach czasowych leczenia (przed leczeniem, po 3 i 6 mc leczenia). W sytuacji niemożności otrzymania/pobrania próbki kału analogicznie od każdej pacjentki zostaną pobrane dwa wymazy rektalne. Próbki te następnie

zostaną zabezpieczone do dalszych badań i przechowywane w temperaturze -80°C do czasu izolacji DNA.

B. Próbkę krwi:

Od każdej pacjentki pobrana zostanie próbka krwi o objętości 1 ml, do próbek zawierających wersenian potasu. Osocze zostanie przygotowane poprzez wirowanie i przechowywane w temperaturze -80°C do czasu analizy.

3. Analiza mikrobiomu jelitowego

Izolacja DNA z pobranych próbek kału/wymazów rektalnych zostanie przeprowadzona przy użyciu zestawu QIAamp DNA Mini. Próbkę zostanie zhomogenizowana, a ekstrakcja DNA zostanie przeprowadzona przy użyciu dedykowanych kolumn. Jakość i ilość wyizolowanego DNA zostanie oceniona. Kompletnie fragmenty bakteryjnego genu 16S rRNA zostaną amplifikowane. Do przygotowania biblioteki DNA zostanie użyta polimeraza o wysokiej wierności, z warunkami PCR zoptymalizowanymi dla specyficznych starterów. Sekwencjonowanie będzie przeprowadzone przy użyciu platform trzeciej generacji.

4. Profilowanie metabolomiczne

Profilowanie metabolomiczne zostanie przeprowadzone przy użyciu LC-MS/MS z wykorzystaniem analizatora w połączeniu z zestawem MxP® Quant 500 XL firmy Biocrates. Analiza ta obejmie szeroki zakres metabolitów, m.in. alkaloidów, pochodnych aminokwasów, wolnych kwasów tłuszczowych, różnych klas lipidów i wielu innych. Dodatkowo, próbki surowicy zostaną pobrane do nieukierunkowanej akwizycji MS. Białka o wysokiej zawartości zostaną usunięte, a stężenie białka zostanie zmierzone.

5. Monitorowanie odpowiedzi na leczenie

Regularne badania fizykalne, badania obrazowe (MR piersi, TK klatki piersiowej i jamy brzusznej) będą przeprowadzane przez lekarza prowadzącego w Centrum Onkologii im. prof. F. Łukaszczyka w Bydgoszczy. Dodatkowo monitorowany będzie też czas wolny od choroby i dokonana zostanie wstępna ocena przeżycia całkowitego.

6. Analiza danych

A. Ocena potencjału predykcyjnego i prognostycznego uzyskanych wyników.

Etap ten będzie obejmował zaawansowaną integrację uzyskanych danych omicznych (dane genetyczne, metabolomiczne i metagenomiczne) w celu identyfikacji charakterystycznych wzorców mogących wpływać na progresję choroby nowotworowej i odpowiedzi na zastosowane leczenie. Szczegółowa analiza korelacji między profilami molekularnymi a odpowiedzią na leczenie zostanie przeprowadzona przy użyciu wybranych metod statystycznych i bioinformatycznych w celu zidentyfikowania markerów o potencjalnie predykcyjnym i prognostycznym.

B. Opracowanie rekomendacji interwencji leczniczych w oparciu o wyniki stratyfikacji molekularnej.

Zostanie podjęta próba stworzenia systemu rekomendacji terapeutycznych w oparciu o wielopoziomową analizę danych, który będzie uwzględniał możliwość adaptacji schematów leczenia na podstawie uzyskanych wyników.

7. Biobankowanie

Wszystkie procedury biobankowania będą wykonywane zgodnie ze Standardami Jakości dla Biobanków wersja 2.00, z zachowaniem zasad GLP i wymagań ISO 20387:2018. Od każdej pacjentki zostaną zbiobankowane próbki krwi, surowicy i osocza. Dodatkowo, od co najmniej 50% rekrutowanych pacjentek zostanie przechowany jeden wymaz rektalny/próbka kału.

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

Wyniki badań w ramach planowanego projektu będą miały kluczowe znaczenie dla rozwoju współczesnej onkologii i biologii molekularnej, wpływając na personalizację leczenia raka piersi. Charakterystyka i analiza mikrobiomu jelitowego i metabolomu pacjentek w odniesieniu do odpowiedzi na zastosowaną terapię może znacząco zmienić podejście diagnostyczno-terapeutyczne. Identyfikacja tych biomarkerów umożliwi stworzenie nowych narzędzi

predykcyjnych, pozwalających zoptymalizować terapię każdej pacjentki chorej na raka piersi, co może znacząco poprawić długoterminowe wyniki leczenia. Dodatkowo też, możliwość zindywidualizowania terapii przyczyni się do lepszego przewidywania i zapobiegania działaniom niepożądanym leczenia systemowego, co bezpośrednio przełoży się na jakość życia pacjentek.

Uzyskane wyniki pozwolą także na poznanie i zrozumienie wzajemnych i dwukierunkowych interakcji pacjent-mikrobiom w kontekście karcynogenezy i odpowiedzi na zastosowane leczenie. Identyfikacja nowych ścieżek metabolicznych i oddziaływań mikrobiomu na organizm pacjentki może potencjalnie otworzyć nowe kierunki badań oraz prowadzić do rozwoju innowacyjnych terapii przeciwnowotworowych, a także opracowania nieinwazyjnych metod monitorowania przebiegu choroby i skuteczności leczenia.

6. PLANOWANA FORMA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

☐ MANUSKRYPT – tradycyjna forma rozprawy nieopublikowanej

☐ CYKL PUBLIKACJI – spójny tematycznie zbiór opublikowanych artykułów

☒ TRYB HYBRYDOWY – spójny tematycznie zbiór opublikowanych artykułów
nieopublikowanych manuskryptów

i