

**WNIOSEK PROJEKTU DOKTORSKIEGO**  
Szkoła Doktorska Nauk Medycznych i Nauk o Zdrowiu

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

**CZĘŚĆ A:**

**OPIS PROJEKTU** (w języku polskim – obligatoryjnie, w języku angielskim - obowiązkowo temat, pozostałe pkt. opcjonalnie jeśli projekt ma być dedykowany również dla kandydatów z zagranicy)

**1. TEMAT PROJEKTU:**

**Poszukiwanie nowych skojarzeń substancji o działaniu przeciwnowotworowym z inhibitorami kinaz cyklozależnych.**

**Searching for new combinational anticancer therapies utilizing cyclin-dependent kinase inhibitors.**

**2. CEL NAUKOWY PROJEKTU I ZNACZENIE PODJĘTEGO PROBLEMU BADAWCZEGO (max. 3000 znaków ze spacjami):**

Celem niniejszego projektu jest poszukiwanie nowych strategii leczenia nowotworów opartych o wykorzystanie inhibitorów kinaz cyklozależnych. Celem dodatkowym, w przypadku znalezienia rokującej kombinacji jest charakterystyka molekularna mechanizmu odpowiedzialnego za synergistyczny efekt oddziaływania obu substancji. Kontrola cyklu komórkowego sprawowana jest głównie przez kompleksy złożone z cyklin i kinaz zależnych od cyklin (CDK). Do chwili obecnej inhibitory CDK (CDKI), w szczególności te, które blokują 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. Mimo to poczyniono ogromne wysiłki i postęp, aby umożliwić zastosowanie inhibitorów pan-CDK w warunkach klinicznych. Rozwój strategii terapii skojarzonej w ostatnich latach umożliwił zmniejszenie toksyczności i skutków ubocznych inhibitorów pan-CDK. Jednocześnie obserwuje się wzrost zainteresowania syntezą i wykorzystaniem selektywnych inhibitorów CDK które charakteryzuje szersze okienko terapeutyczne. Jednocześnie, są to związki o szerokim spektrum działania, z uwagi na to, że jedna kinaza może wpływać na wiele procesów w komórce, a wiele z nich może mieć onkogeny charakter. W związku z powyższym inhibitory zależne od kinaz są doskonałymi kandydatami do stosowania w terapii skojarzonej. Inhibitory CDK4/6 mogą skutecznie

zatrzymać cykl komórkowy w fazie G1/S blokując fosforylację białka Rb, a tym samym hamować proliferację Rb-dodatnich komórek nowotworowych. CDK9 kontroluje elongację transkrypcji i dojrzewanie mRNA i również może mieć znaczenie terapeutyczne dla wielu nowotworów, zwłaszcza tych spowodowanych rozregulowaniem transkrypcji. Jednocześnie, choćby częściowa supresja onkogennych szlaków ma dużą szansę na uwrażliwienie komórek na działanie innego, skutecznego w monoterapii leku. Przykładami mogą być, stosowany w leczeniu nowotworu piersi palbocyclib (inhibitor CDK4/6) skojarzony z fulwestrantem lub letrozolem. Badania *in vitro* wskazują na skuteczność inhibitorów CDK8 w skojarzeniu z inhibitorami MEK, czy inhibitorów CDK1 z sorafenibem. Stąd też poszukiwanie nowych skojarzeń oraz opis ich mechanizmu działania stanowi kluczowy element w pracy nad wprowadzeniem nowych selektywnych inhibitorów kinaz do praktyki klinicznej.

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

Koncepcja badań:

Badania będą miały charakter przesiewowy, nie skupiający się w pierwszej fazie na badaniu linii komórkowych konkretnego typu nowotworu. Po analizie literatury zostanie dokonany wybór kilku selektywnych inhibitorów kinaz, które stosowane są w klinice, bądź mają status potencjalnego leku. Następnie przeprowadzone zostaną testy przeżycia pozwalające na ustalenie dawek stosowanych w dalszych etapach. W kolejnym etapie, inhibitory kinaz będą kojarzone z lekami przeciwnowotworowymi, których skuteczność w monoterapii jest ograniczona, bądź też wobec których szybko dochodzi do wytworzenia oporności na leczenie. Mogą to być przykładowo cisplatyna, 5-fluorouracyl, temozolomid, czy trójtlenek arsenu. Ocenione zostanie czy któraś z kombinacji daje efekt synergistyczny lub też antagonistyczny. Następnie wytypowana kombinacja będzie poddana dalszym szczegółowym badaniom mającym na celu opis zmian molekularnych zachodzących w komórkach w odniesieniu do efektów stosowania obu substancji niezależnie.

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 i z matrycelem.

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

Wyniki realizacji niniejszego projektu mogą umożliwić wytypowanie nowych kombinacji substancji o działaniu przeciwnowotworowym do dalszych badań *in vivo*, które w przyszłości będą mogły mieć zastosowanie kliniczne. Ponadto, selektywne inhibitory kinaz cyklinozależnych jako substancje nowe, są stosunkowo słabo scharakteryzowane pod względem ich molekularnego mechanizmu działania. Wyniki niniejszego projektu mają zatem dużą wartość poznawczą, która potencjalnie może zostać wykorzystana do dalszych badań i wnioskowania o zewnętrzne granty badawcze.

## PROJECT DESCRIPTION

<b>1. TITLE OF THE PROJECT:</b>
Searching for new combinational anticancer therapies utilizing cyclin-dependent kinase inhibitors.
<b>2. RESEARCH OBJECTIVE AND SIGNIFICANCE OF THE RESEARCH PROBLEM ADDRESSED:</b> (max. 3000 characters with spaces)
<b>3. CONCEPT, PLAN AND METHODOLOGY OF THE RESEARCH PROJECT</b> (max. 4000 characters with spaces):
<b>4. EXPECTED SIGNIFICANCE OF RESEARCH RESULTS AND IMPACT ON THE DEVELOPMENT OF THE DISCIPLINE</b> (max. 1500 characters with spaces) :