

Nabłonkowy rak jajnika (EOC) jest najczęściej występującym śmiertelnym ginekologicznym nowotworem. Większość pacjentek z EOC diagnozuje się na zaawansowanym etapie, gdy choroba rozprzestrzeniła się poza jajnik. Tak wysoki wskaźnik śmiertelności jest związany ze złożonością postawienia dokładnej diagnozy. Większość przypadków jest rozpoznawana na trzecim lub czwartym etapie zaawansowania klinicznego choroby. Ważnymi czynnikami ryzyka są historia raka jajnika w rodzinie i predyspozycje genetyczne takie jak mutacje w genie BRCA1/BRCA2. Obecnie dostępnych jest tylko kilka leków zatwierdzonych przez Federalną Agencję Leków (karboplatyna, antracykliny i chemioterapia na bazie taksanu), które mogą powodować działania niepożądane i są częściowo tylko skuteczne u pacjentów z łagodnym do umiarkowanego stopnia zaawansowania raka jajnika. Dlatego istnieje wyraźne zapotrzebowanie na nowe terapie ukierunkowane na podstawową przyczynę raka jajnika, ograniczenie objawów lub całkowity zanik guza. Olaparib (AZD2281, PARPi, inhibitor kinazy PARP), pierwszy zatwierdzony inhibitor naprawy DNA, pozostaje jednym z najważniejszych leków przeciwnowotworowych w klinikach. Enzym naprawczy DNA o nazwie PARP okazał się obiecujący w zabijaniu komórek rakowych z wadami w systemie naprawy DNA wynikających z mutacji w genach BRCA1 i BRCA2. Łączenie olaparibu z inhibitorem kinazy ATR lub CHK może potencjalnie zapewnić śmierć komórek rakowych.

Ścieżka odpowiedzi na uszkodzenie DNA jest bardzo złożoną siecią sygnalizacyjną, w którą zaangażowanych jest wiele białek. Proponujemy nowy rodzaj podejścia, aby uzyskać lepszy efekt przy niższych dawkach. Połączenie olaparibu z ATRi (inhibitor kinazy ATR, AZD6738) lub CHK1i (inhibitor kinazy CHK1, MK8776) może zatem stanowić skuteczną strategię uwrażliwienia komórek raka jajnika na olaparib. ATR i CHK1 mogą bowiem naprawiać uszkodzenia DNA za pomocą mechanizmu zwanego naprawą homologiczną (HR). Dzieje się tak, gdy zdrowa nici DNA jest używana jako matryca do naprawy identycznej, ale uszkodzonej nici DNA.

Zakładamy, że PARPi zwiększa zależność od białek szlaku ATR / CHK1 w celu naprawy uszkodzenia DNA i utrzymania stabilności genomowej, tak że połączenie PARPi z ATRi/CHK1i spowoduje zwiększenie śmierci komórek *in vitro* i regresję guza wyindukowanego u myszy (*in vivo*). Oczekujemy również, że badane związki będą skuteczne zarówno w komórkach raka jajnika z mutacją jak bez mutacji w genie BRCA.

Zatem celem badań jest wykazanie, że leczenie PARPi powoduje aktywację szlaku ATR/CHK1. Kolejnym krokiem będzie sprawdzenie czy połączenie PARPi (AZD2281) z CHK1i (MK8776) lub ATRi (AZD6738) poprawia hamowanie wzrostu komórek nabłonkowego raka jajnika ze sprawnym jak i upośledzonym systemem naprawy homologicznej z obecną mutacją w genie BRCA lub jej brakiem. Działanie cytotoksyczne i genotoksyczne badanych związków zostanie zbadane *in vitro* (linie komórkowe raka jajnika odporne i wrażliwe) jak i *in vivo* przy zastosowaniu modelu mysiego. Metody badawcze, które zostaną zastosowane w projekcie to spektrofotometria, fluorescencja, cytometria przepływowa, western blot, testy immunofluorescencyjne, immunohistochemia, elektroforeza białek (SDS-PAGE), PCR w czasie rzeczywistym i analiza cytogenetyczna.

Chcemy potwierdzić, że PARPi-ATRi lub PARPi-CHK1i zmieniają ekspresję miRNA, znacznie zwiększając poziom aberracji chromosomalnych i spowodują niewłaściwą naprawę podwójnych pęknięć DNA (DSB) przed wejściem w mitozę. Hamowanie szlaku ATR-CHK1 oraz białka PARP jednocześnie zwiększa wytwarzanie DSB, co powoduje albo wzmocnioną apoptozę, albo katastrofę mitotyczną z powodu syntetycznej letalności. Proces ten charakteryzuje się równoczesnym brakiem aktywności co najmniej dwóch produktów białkowych określonych genów, co powoduje śmierć komórki, natomiast każdy z nich wyciszony indywidualnie nie powoduje śmiertelnego efektu. Spodziewamy się zatrzymania wzrostu lub regresji guza po monoterapii CHK1i lub ATRi i znacznie silniejszych zmian przy jednoczesnym podaniu ATRi/CHK1i z olaparibem. Oczekujemy nieznacznych efektów ubocznych działania badanych związków lub ich braku z powodu stosowania małych dawek, chociaż nie możemy ich całkowicie wykluczyć. Potwierdzenie hipotezy badawczej zapewni podstawę do kontynuacji badań nad AZD6738 (ATRi), MK-8776 (CHK1i) jako związków do powszechnego stosowania w raku jajnika.

Prezentowany projekt znajduje się w głównym nurcie badań podstawowych. Dlatego badania przeprowadzone w ramach projektu znacznie zwiększą wiedzę na temat mechanizmu działania inhibitorów kinazy ATR i CHK1 podawanych pojedynczo jak i łącznie z olaparibem w raku jajnika.