

Syntetyczne analogi opioidowego czynnika wzrostu połączone z pochodnymi glukozaminy jako związki o potencjalnej aktywności przeciwnowotworowej wobec nowotworu trzustki

Najczęstszym nowotworem trzustki jest rak gruczołowy nabłonka przewodu trzustkowego (PDAC), charakteryzuje się on wysoką śmiertelnością, krótkim czasem przeżycia oraz brakiem skutecznego leczenia. Zgodnie z dotychczasowymi badaniami opioidowy czynnik wzrostu (OGF), chemicznie określany jako met-enkefalina, wykazuje hamujący wpływ na wzrost komórek nowotworowych, między innymi raka trzustki w badaniach *in vitro* i *in vivo*. Celem projektu jest poszukiwanie nowych substancji aktywnych o potencjalnym znaczeniu klinicznym w terapii nowotworu trzustki. Badania obejmują związki będące analogami opioidowego czynnika wzrostu (OGF): met-enkefaliny, o udokumentowanej aktywności przeciwnowotworowej oraz antyangiogennej. Utworzenie koniugatów z glukozaminą ma na celu nasilenie jego działania przeciwnowotworowego OGFu między innymi poprzez udokumentowane działanie immunostymulujące glukozaminy. W pierwszym etapie badań biologicznych za pomocą testów MTT i LDH zostanie oceniony wpływ otrzymanych związków na żywotność komórek nowotworowych (PANC-1, MIA PaCa2, Capan-1) w porównaniu z linią nieśmiertelnioną (hTERT-HPNE) i pierwotną linią komórek epitelialnych nerki. Związki o najlepszym profilu cytotoksyczności wykorzystane zostaną do kolejnych etapów projektu. Ocena aktywności antyproliferacyjnej przeprowadzona zostanie przy użyciu komercyjnie dostępnego testu BrdU. W celu oznaczenia niespecyficznej aktywności cytotoksycznej, cytostatycznej i antyproliferacyjnej zsyntetyzowanych związków przeprowadzimy badania na komórkach raka trzustki z wyciszoną ekspresją genu OGF α . Zbadamy również wpływ zsyntetyzowanych związków na cykl komórkowy za pomocą cytometru przepływowego; poziom białek związanych z aktywacją receptora OGF i markerów śmierci komórkowej za pomocą techniki Western blot; angiogenezę w teście tworzenia naczyń *in vitro* na ludzkich liniach HUVEC. Analiza zmian strukturalnych oraz ultrastrukturalnych w komórkach nowotworowych traktowanych wybranymi kompleksami, przeprowadzona zostanie za pomocą technik mikroskopowych. Aktywność immunostymulującą związków ocenimy poprzez pomiar ich wpływu na żywotności komórek jednojądrzaste krwi obwodowej, limfocyty krwi obwodowej i monocyty, poziom cytokin prozapalnych a także aktywność komórek NK pozyskany z krwi zdrowych ochotników. Określimy również wpływu badanych związków na aktywację płytek krwi przez komórki raka trzustki z wykorzystaniem unikatowej aparatury - QCM-D, imitując warunki panujące w ludzkim układzie mikronaczyniowym. Zbadamy również wpływ wybranych związków na żywotność pierwotnych linii komórkowych nowotworu trzustki pozyskanych chirurgicznie od pacjentów ze zdiagnozowanym gruczolakorakiem przewodowym trzustki. W ostatnim etapie projektu, po wstępnych badaniach z zakresu toksyczności i farmakokinetyki wybrany związek dwóch ocenimy pod kątem ich aktywności przeciwnowotworowej na transgenicznym modelu myszy. Analiza uzyskanych wyników zostanie przeprowadzona za pomocą programu GraphPad PRISM 5. Wyniki uzyskane w projekcie stanowią będą podstawę do dalszych rozszerzonych badań *in vivo*, które ostatecznie mogą doprowadzić do aplikacji patentowej i wprowadzenia na rynek nowego leku.