

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: **Opracowanie syngenicznego modelu raka nerki z modyfikacją PTEN metodą CRISPR/Cas9**

2. Czas trwania projektu: 24 miesiące

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) rak nerki, PTEN, guz nowotworowy, odpowiedź immunologiczna, angiogeneza

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) **Badania podstawowe**

A. Badania podstawowe

B. Badania translacyjne lub stosowane

C. Badania mające na celu zachowanie gatunku

D. Badania z zakresu medycyny sądowej

E. Badania zapewniające poprawę dobrostanu zwierząt lub warunków chowu lub hodowli zwierząt gospodarskich

F. Badania w celu opracowania i produkcji produktów leczniczych, środków spożywczych, pasz lub innych substancji lub produktów, lub badań ich jakości, skuteczności lub bezpieczeństwa stosowania

G. Badania w celu ochrony środowiska naturalnego

H. Badania w celu kształcenia na poziomie szkolnictwa wyższego lub szkolenia w celu nabycia lub doskonalenia kompetencji zawodowych

5. OPIS PLANOWANEGO DOŚWIADCZENIA

Należy określić cel naukowy lub edukacyjny doświadczenia, w tym przewidywane szkody, jakie może ono spowodować u wykorzystywanych zwierząt, i korzyści, jakie przyniesie ono dla rozwoju nauki i dydaktyki. Maksymalnie 250 słów, tekst musi być zrozumiały dla niespecjalisty.

Nowotworzenie jest skomplikowanym i wieloetapowym procesem, w którym w komórce gromadzą się mutacje prowadzące do jej niekontrolowanego wzrostu. Najczęściej pojawiają się w genach protoonkogenów lub supresorów nowotworu. Jednym z nich jest PTEN, supresor, którego uszkodzenie skutkuje ciągłą aktywacją PI3K, jednego z głównych regulatorów komórkowych odpowiedzialnego m. in. za metabolizm, proliferację, apoptozę i migrację komórek. Mutacja PTEN w komórkach nowotworowych promuje ich przeżywanie i wzrost, a guzy takie charakteryzują się szybszym tempem wzrostu, większą zdolnością do przerzutowania oraz gorszym rokowaniem. Wykazano także, że uszkodzenie PTEN hamuje reakcje obronne układu odpornościowego przez co obniża się skuteczność

immunoterapii. W takich guzach następuje też intensywna, ale wadliwa angiogeneza- zjawisko formowania naczyń krwionośnych. Jednocześnie, eksperymentalne przywrócenie funkcjonalnego PTEN w komórkach raka spowalnia wzrost guza, przywraca odpowiedź obronną organizmu i powoduje łagodniejszy przebieg choroby. Dlatego gen ten oraz regulowane przez niego ścieżki sygnalizacyjne stanowią potencjalny cel terapeutyczny; szczególnie w guzach litych wywołujących immunosupresję lub opornych na immunoterapię. Jednym z nich może być rak nerki (Renal Cell Carcinoma, RCC); nowotwór charakteryzujący się silnym unaczynieniem i hamowaniem aktywności układu odpornościowego. Obecnie wprowadzane jest do praktyki klinicznej leczenie tego nowotworu za pomocą immunoterapii- mającej przywracać obronną aktywność układu odpornościowego chorego. Jednak nawet w ponad 30% przypadków raka nerki, aktywność PTEN jest zaburzona, co może znacząco ograniczyć skuteczność immunoterapii. Celem projektu jest określenie jak brak funkcjonalnego PTEN wpływa na przebieg raka nerki- w tym odpowiedź immunologiczną i unaczynienie guza, co może wskazać nowe cele dla terapii tego nowotworu lub strategię zwiększania skuteczności aktualnie stosowanych leków.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Myszy szczepu BALB/c (84 osobniki)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

W celu ograniczenia liczby wykorzystywanych zwierząt, początkowe etapy realizacji projektu będą wykonywane w modelu *in vitro*. Z wykorzystaniem linii z dzikim lub zmutowanym genem pten wykonane zostaną testy świadczące o agresywności nowotworu oraz zostanie porównana ekspresja genów tych 2 linii komórkowych. Pozwoli to wstępnie ocenić wpływ wyłączenia PTEN na charakterystykę komórek nowotworowych. Jednak całkowite zastąpienie modelu zwierzęcego nie jest możliwe; aby określić wpływ inaktywacji PTEN na formowanie mikrośrodowiska nowotworu, przebieg odpowiedzi immunologicznej i angiogenezy, niezbędne jest przeprowadzenie badań w żywym organizmie. Wybrany model raka nerki jest powszechnie stosowany w badaniach podstawowych; przebieg choroby po implantacji komórek

¹ Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

rakowych jest dobrze poznany. Pozwala to na ograniczenie trwania doświadczenia (4 tygodnie), a rozwijający się guz nie prowadzi do znaczącego pogorszenia dobrostanu zwierząt (osiąga do 1 cm wielkości, nie obserwuje się spadku wagi zwierząt powyżej 20%). Komórki nowotworowe są podawane podskórnie, co nie wymaga obciążających zwierzę zabiegów (np. wszczepianie komórek bezpośrednio do nerek), ale pozwala na badania wszystkich zjawisk zachodzących w czasie rozwoju choroby nowotworowej.

Wybrany do badań model jest zatem odpowiedni dla otrzymania wartościowych wyników, a także dobrze opisany, dlatego istnieje niewielkie ryzyko wystąpienia w czasie doświadczeń cierpienia u zwierząt. Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na dokładne scharakteryzowanie roli genu PTEN w rozwoju raka nerki. Z czasem, może to przyczynić się do wprowadzenia nowych strategii leczenia raka także u ludzi.