

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projekt „Regulacja procesu przejścia epitelialno-mezenchymalnego i oporności na stosowane terapie przeciwnowotworowe przez białko MCPIP1”
2. Czas trwania projektu54 miesiące
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) ..HCC, MCPIP1, inicjacja, oporność, EMT.....
4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych)A. Badania podstawowe ...(Onkologia).....

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.

Celem projektu jest kompleksowa ocena roli białka MCPIP1 (ang. Monocyte Chemotactic Protein-1 Induced Protein) w procesie inicjacji i rozwoju nowotworów wątroby (ang. hepatocellular carcinoma, HCC) oraz przejścia epitelialno-mezenchymalnego (ang. Epithelial to Mesenchymal Transition, EMT). Nasze badania pozwolą wyjaśnić, czy białko MCPIP1 ma znaczenie w odpowiedzi na stosowane leczenie w chorobie nowotworowej i nabywaniu oporności na terapię.

Wyniki otrzymane przez nasz zespół wskazują, że białko MCPIP1 w sposób bezpośredni, dzięki aktywności RNazy, bądź pośredni poprzez regulację wydzielania cytokin i czynników wzrostu, reguluje proces EMT, wpływa na nabywanie cech komórek macierzystych, reguluje funkcje mikrośrodowiska

guza i w konsekwencji powoduje nabywanie oporności na terapie. W naszych badaniach w celu indukcji nowotworu wątroby in vivo wykorzystamy model transgeniczných myszy pozbawionych ekspresji genu Zc3h12a, kodującego MCPIP1 w komórkach wątroby - hepatocytach. W naszych badaniach wykorzystamy transgeniczne myszy *Mcpip1^{hep}-/-* i sprawdzimy wpływ braku MCPIP1 w hepatocytach na ekspresję genów i poziom białek. Wykonamy analizy histologiczne, aby ocenić rozwój EMT na poziomie molekularnym. W kolejnym kroku sprawdzimy, jak brak MCPIP1 w hepatocytach u *Mcpip1^{hep}-/-* wpływa na rozwój chemicznie indukowanego nowotworu wątroby (ang. hepatocellular carcinoma, HCC) i rozwój oporności na stosowane leczenie. Uzyskane guzy nowotworowe zostaną poddane analizie histopatologicznej w celu zbadania poziomu MCPIP1, markerów naczyń krwionośnych (CD31, CD144), markerów naciekających makrofagów (F4/80) i neutrofili (7/4). Izolacja RNA z płuc, szpiku i wątroby pozwoli ocenić potencjał do przerzutowania komórek ccRCC za pomocą reakcji PCR w czasie rzeczywistym. Białko uzyskane z guzów zanalizujemy także z przy użyciu macierzy białkowych. Wykorzystując metodę Luminex, która pozwala analizować do kilkudziesięciu cytokin w próbce, zanalizujemy także mysie osocze a izolacja pierwotnych komórek z wątroby myszy pozwoli nam na kontynuowanie badań w warunkach in vitro.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

210 myszy, *Mus musculus*; Szczep: C57BL/6

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

Zastąpienie - Ze względu na charakter doświadczenia które ma na celu pomiar procesów in vivo

nie ma możliwości zastąpienia badaniami in vitro opisanych procedur. Żadna metoda laboratoryjna nie odda w pełni tego procesu, w którym biorą udział, oprócz komórek wątroby (hepatocyty, komórki gwiazdziste, komórki Kupfera, komórki śródbłonna, makrofagi wątrobowe, komórki NK, komórki progenitorowe) również adipocyty czy leukocyty z krwi. Badania in vitro, w których usuwa się z pożywki hodowlanej np. surowicę nie odzwierciedlają prawidłowo mechanizmów zachodzących w wątrobie. Dlatego tak ważne jest opracowywanie modeli in vivo, które pozwolą lepiej zrozumieć procesy fizjologiczne jak i patofizjologiczne zachodzące w wątrobie. Najlepszym modelem w tym

przypadku jest mysz, której wątroba zarówno w budowie jak i fizjologii odpowiada ludzkiej wątrobie. Ponadto badania *in vitro* nad komórkami nowotworowymi trudno odnieść do faktycznych fizjologicznych mechanizmów biologii komórek nowotworowych. Z tego względu nie jest możliwe zastąpienie doświadczeń z użyciem zwierząt laboratoryjnych metodami *in vitro*. W przypadku użycia zwierząt mniej rozwiniętych (bezkęgowce, *Danio rerio*), nie jest możliwe podanie komórek nowotworowych i odpowiednie badanie procesu angiogenezy. Organizm zwierząt bezkręgowych jest znacząco odmienny od organizmu ssaków. W związku z tym, zastąpienie zwierząt kręgowych w poniższym projekcie zwierzętami bezkręgowymi nie jest możliwe.

Ograniczenie- Liczebność grup została zminimalizowana do 15 osobników na grupę poprzez zmniejszenie zmienności w ich obrębie. Wszystkie zwierzęta będą pochodziły z hodowli wsobnej prowadzonej w Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ, dzięki czemu ograniczymy zmienność genetyczną. Użyta liczba zwierząt pozwoli nam na uzyskanie zdecydowanie bardziej wiarygodnych wyników.

Udoskonalenie- Zwierzętom zostanie zapewniony odpowiedni czas na aklimatyzację, a także stabilne środowisko (wilgotność, temperatura, odpowiednia pasza). W trakcie trwania eksperymentu zwierzęta nie powinny być narażone na dodatkowy dystres. W pojedynczej klatce hodowanych będzie 5 osobników by uniknąć długotrwałego dystresu związanego z możliwym przegęszczeniem.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną

- TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy

☒ NIE