

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Przywrócenie odpowiedzi przeciwnowotworowej w glejakiach poprzez blokowanie działania osteopontyny/Spp1 z użyciem peptydów i dostarczonych za pomocą nanonośników cząsteczek siRNA/shRNA.

2. Czas trwania projektu: 01.03.2019 – 01.03.2023.

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): NOWOTWÓR MÓZGU, GLEJAK, TERAPIA, DENDRYMERY

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) „B”

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.

W glejakiach złośliwych - najczęstszych pierwotnych guzach mózgu, dochodzi do wytworzenia lokalnej i systemowej immunosupresji przy udziale makrofagów mózgowych (mikrogleju) i obwodowych. Komórki te określane jako GAM (ang. glioma-associated microglia/macrophages) stanowią często do 30% masy guza. Przemiany indukowane przez glejaki w komórkach GAM są odwracalne i poprzez odpowiednią modulację funkcji tych kluczowych dla odpowiedzi odpornościowej komórek, można przywrócić odpowiedź przeciwko nowotworowi. Jednym z kluczowych czynników kształtujących proinwazyjny fenotyp GAM jest osteopontyna/Spp1 (ang. secreted phosphoprotein 1). Dane kliniczne wskazują, że poziom SPP1 w guzach i surowicy pacjentów z glejakiem koreluje ze stopniem

złośliwości.

Celem projektu jest zbadanie wpływu wyciszenia ekspresji Spp1 przy użyciu nanonośników – dendrymerów lub zablokowania jej oddziaływania poprzez peptyd interferujący, na wielkość guza oraz profil odpowiedzi komórek układu odpornościowego nowotworu. Badania te przyczynią się do poznania nowych mechanizmów kluczowych dla rozwoju i progresji glejaka, w tym roli przekąźnictwa przez integryny. Zwiększone wydzielanie osteopontyny poza glejakiem cechuje także wiele innych złośliwych nowotworów, przez co uzyskane wyniki mogą mieć szersze znaczenie dla zrozumienia patobiologii tych zazwyczaj nieuleczalnych chorób.

W ramach realizacji projektu do manipulacji aktywnością osteopontyny in vivo planujemy użyć nowatorskich nanonośników – dendrymerów (polimery o rozgałęzionej strukturze) oraz siRNA (krótkie interferujące RNA) i peptydu blokującego działanie osteopontyny. Jako model glejaka zostaną wykorzystane komórki glejaka mysiego oraz ludzkiego które zostaną zaimplantowane do mózgu myszy. Wielkość guza po zastosowaniu badanych cząsteczek będzie oceniana przyżyciowo z zastosowaniem rezonansu magnetycznego oraz aparatury „In Vivo Xtreme” oraz mikroskopowo na skrawkach histologicznych.

Doświadczenie zostanie zakończone przed pojawieniem się dyskomfortu i bólu u zwierząt wywołanego przez nowotwór.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mysz bezgrasicza Athymic Nude-Foxn1nu – 144 sztuk

Mysz wild type C57BL6 - 276 sztuk

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam/sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: PUBMED oraz SCOPUS.

Wykorzystałam/em słowa kluczowe:

cancer/glioma/therapy/peptide/nanocarrier/dendrimer/siRNA/shRNA

osteopontin/glioblastoma/microglia/microenvironment

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że:

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że: białko osteopontyny/SPP1 jest czynnikiem stymulującym wzrost glejaków.

B. Brak jest danych dotyczących: zastosowania peptydów blokujących białko SPP1 oraz nanonośników cząsteczek siRNA/ shRNA wyciszających ekspresję SPP1 w terapii glejaków.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

A/ Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku: poznania nowych mechanizmów kluczowych dla rozwoju i progresji glejaka, w tym roli przekazywania przez receptory integracyjne.

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na: przygotowaniu rzetelnej publikacji naukowej, potwierdzenie skuteczności działania proponowanej strategii terapeutycznej umożliwi rozpoczęcie prac nad lekiem opartym na nanonośnikach cząsteczek siRNA/ shRNA wyciszających ekspresję SPP1 w mikrośrodku glejaka.

Zasada zastąpienia

Myszy stanowią uznany model do badań in vivo tego typu związków zgodny z wytycznymi Europejskiej Agencji Leków (EMA) oraz Agencji ds. Żywności i Leków (FDA). Wybrany model doświadczalny glejaków jest uznanym modelem badawczym powszechnie wykorzystywanym w badaniach nad lekami o działaniu przeciwnowotworowym w ośrodkowym układzie nerwowym. Ze względu na złożoność badanego procesu, a w szczególności występowanie ścisłej interakcji pomiędzy komórkami glejaka a innymi typami komórek mikrośrodowiska powstającego guza, badania z wykorzystaniem zwierząt kręgowych są niezbędne do osiągnięcia celu doświadczenia, tj. określenia aktywności przeciwnowotworowej badanych związków. W badaniach in vitro nie można sprawdzić interakcji organizmu, nowotworu i terapii przeciwnowotworowej, takich jak metabolizm badanych

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

związków, skutki uboczne terapii, roli układu immunologicznego, dynamiki wzrostu nowotworu oraz powstawania przerzutów.

Zasada ograniczenia

Planowane badania uwzględniają wykorzystanie najmniejszej możliwej liczby zwierząt w poszczególnych grupach. Przewidziana liczba zwierząt jest niezbędna do przeprowadzenia prawidłowej analizy statystycznej otrzymanych wyników.

Zasada udoskonalenia

Wszystkie procedury opisane we wniosku zostały zaplanowane tak, aby ograniczyć do minimum stres oraz dyskomfort zwierząt użytych w doświadczeniu. Do badań in vivo wybierane są jedynie te związki, które w testach in vitro działają w niskich stężeniach oraz charakteryzują się dobrym profilem farmakokinetycznym, czyli są bezpieczne dla zwierząt. Przez cały okres trwania eksperymentu codziennie będzie kontrolowany stan zdrowia zwierząt oraz ich masa ciała, w celu wykrycia wszelkich oznak dystresu lub cierpienia. W przypadku wystąpienia takich objawów (spadek masy ciała, zaburzenia poruszania się, atypowe zachowanie, nie przyjmowanie pokarmu) zwierzę będzie wyeliminowane z dalszych czynności oraz będzie poddane humanitarnemu uśmierceniu.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

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

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

☐ NIE

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.