

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: **Przywracanie fizjoksji w celu naprawy niedotlenionych tkanek-regulacja mikroRNA dla celowanej normalizacji naczyń w nowotworach**

2. Czas trwania projektu: 36 miesięcy

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) fizjoksja, angiogeneza, mikroRNA, guz nowotworowy, hipoksja

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.

W czasie szybkiego wzrostu guza nowotworowego, zasilanie go naczyniami krwionośnymi jest niewystarczające, co często doprowadza do zjawiska niedotlenienia (hipoksji). Obniżone ciśnienie tlenu skutkuje zwiększoną chemo- i radioopornością guza, zaburzoną odpowiedzią immunologiczną (indukcją immunosupresji) oraz selekcją komórek nowotworowych o agresywnym fenotypie, co promuje przerzutowanie. Choć w guzie powstają nowe naczynia, są jednak patologiczne i nie funkcjonują prawidłowo przyczyniając się do progresji choroby. Celem projektu jest opracowanie nowej strategii łagodzenia niedotlenienia w guzie nowotworowym za pomocą celowanej terapii genowo-komórkowej kompensującej działanie patologicznych mikroRNA. MikroRNA (miR) to małe niekodujące RNA, które

poprzez wiązanie komplementarnej cząsteczki mRNA regulują aktywność genów. W projekcie oceniany będzie wpływ normalizacji naczyń krwionośnych w guzie (za pomocą ITPP; allosterycznego efektora hemoglobiny) i w konsekwencji przywrócenia fizjoksji (fizjologicznego dla danej tkanki poziomu tlenu), na mikroRNA odpowiadające za regulację naczyń w guzie. Zidentyfikowane wadliwe miR w guzie zostaną następnie naprawione; sekwencje blokujące ich działanie zostaną dostarczone do guza za pomocą progenitorów komórek śródbłonna (Progenitor Endothelial Cells, PEC). Ocenione zostanie czy doprowadzi to do normalizacji naczyń i w konsekwencji ograniczenia progresji choroby: przywrócenia odpowiedzi obronnej, ograniczenia wzrostu nowotworu i przywrócenia dostępności guza dla leków (dzięki prawidłowemu funkcjonowaniu naczyń). W projekcie będą wykorzystywane 3 modele syngeniczne nowotworów: czerniaka, raka nerki i raka piersi. W ostatnim etapie projektu, ocenione zostanie czy podwójna terapia- z wykorzystaniem ITPP i PEC niosących kompensacyjne miR, jest potencjalnie strategią leczenia badanych nowotworów- czy wpływają korzystnie na mikrośrodowisko guza. W efekcie projektu, zaproponowana zostanie nowa strategia leczenia nowotworów, w których następuje rozregulowanie naczyń nowotworowych z zaburzeniem mikroRNA.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Myszy szczepu BALB/c (900 osobników) oraz C57Bl6 (486 osobników)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

W celu ograniczenia liczby wykorzystywanych zwierząt, początkowe etapy realizacji projektu będą wykonywane w modelu *in vitro*. Wykorzystując ludzkie i mysie linie komórkowe badanych typów nowotworów, otrzymywane będą sferoidy, do których następnie będą dodawane komórki śródbłonna lub układu odpornościowego. Pozwoli to określić część interakcji zachodzących w mikrośrodowisku guza za pomocą metod *in vitro* (m. in. mikroskopia). Jednak całkowite zastąpienie modelu zwierzęcego nie jest możliwe; otrzymanie wartościowych biologicznie danych, mogących stanowić podstawę do

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

opracowywania terapii z wykorzystaniem zaproponowanej strategii u ludzi, wymaga przeprowadzenia badań w żywym organizmie.

Wybrane modele nowotworów są powszechnie stosowane w badaniach podstawowych; przebieg choroby po implantacji komórek 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. Związek wykorzystywany w projekcie, przeszedł już pomyślnie I fazę badań klinicznych u ludzi (zdrowi ochotnicy) i nie wykazał znaczących toksyczności. Zaproponowany schemat podawania leku był już stosowany u myszy i wykazywał działanie przeciwnowotworowe. Komórki PEC podawane zwierzętom (wg opisanej już metody), będą pochodziły od dawców tego samego szczepu, aby ograniczyć ryzyko wystąpienia negatywnych skutków odpowiedzi immunologicznej.

Wybrane do badań modele są zatem odpowiednie dla otrzymania wartościowych wyników, a także dobrze opisane, dlatego istnieje niewielkie ryzyko wystąpienia w czasie doświadczeń cierpienia u zwierząt. Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na opracowanie nowej strategii kontroli choroby nowotworowej poprzez działanie na komórki śródbłonna i przywracanie prawidłowego poziomu tlenu w guzie. Z czasem, może to przyczynić się do wprowadzenia nowych strategii leczenia raka także u ludzi.