

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „Farmakoterapia śródbłonna naczyniowego i aktywacji płytek krwi zależna od prostacykliny, tlenku azotu i tlenku węgla – nowa strategia w zapobieganiu przerzutowości nowotworowej” Podtytuł: : „Rola farmakologicznych i genetycznych modyfikacji zewnątrzkomórkowego katabolizmu nukleotydów w rozwoju guza pierwotnego gruczołu mlekowego oraz przerzutowania u myszy C57BL/6”

2. Czas trwania projektu 1.02.2018 do 30.06.2019

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) .nowotwór, przerzuty nowotworowe, śródbłonek, zewnątrzkomórkowy metabolizm nukleotydów, sygnałowanie purynergiczne

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.

Naczynia krwionośne wyścielone są wysoce wyspecjalizowaną warstwą komórek śródbłonkowych. Zdrowy śródbłonek ma zasadnicze znaczenie dla prawidłowej pracy układu sercowo-naczyniowego. Dysfunkcja śródbłonna jest obecna u pacjentów nowotworowych, promuje aktywację płytek krwi, aktywuje mechanizmy pro-zakrzepowe i prozapalne, odgrywając kluczową rolę w przerzutach nowotworowych. Zaobserwowany został związek pomiędzy aktywnością metabolizmu zewnątrzkomórkowych nukleotydów a progresją i przerzutowaniem nowotworów.

Celem przedstawionego projektu jest: 1) zbadanie mechanizmów dysfunkcji śródbłonna związanych ze wzrostem guza i przerzutowością nowotworową w unikatowych modelach zwierzęcych

2) zbadanie wpływu substancji działających w oparciu o mechanizmy zależne od sygnalizacyjnych szlaków purynergicznych oraz enzymów związanych z metabolizmem nukleotydów na proces progresji nowotworu i tworzenia przerzutów u myszy typu dzikiego i genetycznie zmodyfikowanych;

4) opracowanie panelu biomarkerów dysfunkcji śródbłónka umożliwiających ocenę skuteczności farmakoterapii śródbłónka lub przerzutowości nowotworowej w modelach doświadczalnych oraz u pacjentów z chorobami nowotworowymi. Ze względu na podjętą tematykę badań i ich cel, niezbędne jest przeprowadzenie doświadczeń in vivo o charakterze translacyjnym, aby uzyskane wyniki można było odnieść do organizmu człowieka. Realizacja projektu może znacząco przyczynić się do poszerzenia wiedzy z zakresu przebiegu choroby nowotworowej oraz przerzutowania, a uzyskane wyniki mogą stanowić w nieodległej przyszłości podłoże innowacyjnej strategii terapeutycznej. Uważamy, że farmakologiczne celowane modyfikowanie badanych szlaków sygnalizacyjnych może znaleźć zastosowanie jako terapia uzupełniająca w leczeniu nowotworów. Wyrażamy też przekonanie, że zysk w postaci otrzymanych wyników naukowych, prowadzących do postępu w terapii nowotworów, jest stanie zrównoważyć cierpienie wykorzystanych w procedurach zwierząt.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Ocena rozwoju choroby nowotworowej oraz wpływu zmian zewnątrzkomórkowego metabolizmu nukleotydów na jej przebieg i przerzutowanie zostanie zbadana in vivo z użyciem myszy oraz myszy genetycznie zmodyfikowanych. Grupy kontrolne będą stanowić myszy nieobciążone nowotworem. Zastosowane zostaną myszy szczepu C57BL/6, ponieważ ten szczep jest powszechnie wykorzystywany do modyfikacji genetycznych. Łącznie użytych zostanie 570 myszy.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

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

Zastąpienie: Ze względu na złożoność badanego procesu (wzrost nowotworu a następnie jego przerzutowanie) eksperyment przy obecnym stanie możliwości technicznych może być wykonany tylko z użyciem żywych zwierząt. Zaprojektowany model doświadczenia zakłada interakcje wielonarządowe w których kluczowym elementem jest śródbłonek naczyń krwionośnych. Śródbłonek poprzez wydzielane lub metabolizowane z jego udziałem związki decyduje o parametrach hemodynamicznych naczyń, o ich przepuszczalności ale też o ich zdolności do przepuszczania komórek nowotworowych do wnętrza unaczynionych przez nie tkanek. Stąd pełne zbadanie roli zmian zewnątrzkomórkowego metabolizmu nukleotydów w patogenezie choroby nowotworowej, jest możliwe tylko poprzez wykorzystanie zwierząt laboratoryjnych. Zastosowane inhibitory enzymów metabolizmu nukleotydów jak i ligandy receptorów adenozynowych przeszły fazę badań *in vitro*, ale doświadczenia te nie były w stanie dostarczyć wiedzy na temat ich działania przeciwnowotworowego lub pronowotworowego wynikającego z interakcji wielonarządowej.

Ograniczenie: W celu zminimalizowania ilości użytych zwierząt, koniecznych do wykonania eksperymentów wykorzystano prognozowanie statystyczne wielkości próby.

Udoskonalenie: Zwierzęta wykorzystywane w eksperymentach utrzymywane będą w warunkach optymalizowanych tak, aby zmniejszyć zmienność wewnątrzgrupową. Wszystkie czynności w procedurach zostały zaprojektowane tak, aby ograniczały do minimum albo eliminowały ból i cierpienie. Zwierzęta otrzymają zabawki urozmaicające środowisko. Przygotowując wniosek dokonano przeglądu istniejących baz danych piśmiennictwa wykorzystując następujące układ słów kluczowych: (cancer OR carcinoma) AND („mammary gland” OR breast) AND (mouse AND mice) AND (cd-- OR cd-- OR adenosine) i nie znaleziono opublikowanych prac zawierających zaprojektowane przez nas procedury. Zespół wykonujący doświadczenie posiada olbrzymi dorobek badawczy potwierdzający jego kwalifikacje w zakresie badań *in vivo*. Oznaczenia biochemiczne zostaną wykonane za pomocą najnowocześniejszych technik dostępnych w Polsce w tym wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią masową (metabolomika) oraz analizatora biochemicznego Seahorse (energetyka mitochondriów) co w opinii zespołu gwarantuje dużą wiarygodność i powtarzalność wyników.