

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Preparaty siRNA w terapii genowej czerniaka w badaniach *in vitro* i *in vivo*.

2. Czas trwania projektu: 02.01.2017 r. – 22.09.2021 r.

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): siRNA, angiogeneza, czerniak, nowotwór skóry, sekwencje wyciszające

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): A

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.

Projekt badawczy będzie realizowany w zakresie eksperymentalnej terapii genowej nowotworów i farmacji stosowanej, w ramach badań podstawowych. W doświadczeniu zbadany zostanie potencjał przeciwnowotworowy (antyangiogeny) preparatów siRNA, które mają na celu wyciszenie wybranych genów, a w konsekwencji ograniczanie wzrostu czerniaka (B16 (F10)) poprzez hamowanie angiogenezy.

Projekt zakłada opracowanie układów transfekcyjnych zawierających plazmidy psiRNA oraz wybrane nośniki niewirusowe, które będą efektywnie wprowadzane do komórek mysiego czerniaka linii B16 (F10) *in vitro*. W kolejnych etapach projektu wybrane formułacje farmaceutyczne psiRNA/nośnik zostaną wykorzystane do badań *in vivo*.

Projekt zakłada wykonanie trzech doświadczeń na myszach szczepu C57BL/6J. Pierwsze z nich będzie polegało na wszczepianiu podskórnym myszom transfekowanych komórek mysiego czerniaka linii B16 (F10) preparatami psiRNA z wykorzystaniem pierwszego nośnika. W kolejnym doświadczeniu myszom zostaną podane komórki czerniaka i po osiągnięciu przez guzy 2-4 mm średnicy, rozpoczęta zostanie terapia polegająca na wprowadzaniu preparatów psiRNA w postaci iniekcji doguzowej z wykorzystaniem dwóch nośników. Wpływ wprowadzonych preparatów psiRNA/nośnik na wzrost guzów nowotworowych, zarówno w pierwszym jak i w drugim doświadczeniu, oceniany będzie co 3 dni poprzez ich pomiar za pomocą suwmiarki. Po 21 dniach wszystkie zwierzęta poddane zostaną eutanazji, a następnie pobrane zostaną z nich tkanki i narządy do dalszych badań. Trzecie doświadczenie opiera się na wstrzyknięciu śródskórnym transfekowanych komórek nowotworowych preparatami psiRNA z wykorzystaniem pierwszego nośnika. Po 5 dniach zwierzęta poddane zostaną eutanazji, a tkanki i narządy pobrane zostaną do dalszych badań.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

196 myszy (samice) C57BL/6J

45 myszy (samców) C57BL/6J

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: EBSCO, PUBMED, Google Scholar, AGRICOLA, ScienceDirect, Web of Science (JCR).

Wykorzystałam słowa kluczowe: siRNA, angiogeneza, czerniak, nowotwór skóry, sekwencje wyciszające.

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że nowotwór złośliwy skóry charakteryzuje się wyjątkowo dużą skłonnością do wczesnych przerzutów oraz skrajną opornością na leczenie. W celu poprawy skuteczności terapii prowadzone są badania nad wprowadzaniem innowacyjnych metod leczenia, do których należy m.in. antyangiogenna terapia genowa. Koncepcja wykorzystania preparatów

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

antyangiogennych bazujących na cząsteczkach siRNA poparta jest wzrastającą ilością danych z badań klinicznych. W rozwoju guzów nowotworowych ograniczenie procesu angiogenezy stanowi jedną ze strategii terapeutycznych i może przyczynić się do zmniejszenia powstawania przerzutów. Badania przeprowadzane na zwierzętach są podstawowym i obecnie najlepszym sposobem oceny wpływu określonych substancji na organizm człowieka, stąd zastosowanie powyższej metody w projekcie.

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że ilość zwierząt użytych w doświadczeniu jest optymalna do potwierdzenia hipotezy badawczej.

B. Brak jest danych dotyczących toksycznego wpływu działania preparatów siRNA na mysz.

Zasada zastąpienia

Wybrane preparaty psiRNA zostały przetestowane w warunkach in vitro, a wyniki potwierdziły założoną hipotezę badawczą. Kolejnym etapem jest wykonanie doświadczeń z wykorzystaniem zwierząt laboratoryjnych, ze względu na istotny wpływ stosowanych preparatów na cały organizm. Wszystkie procedury wykonywane będą z odpowiednią dokładnością i poszanowaniem dla życia badanych zwierząt.

Zasada ograniczenia

Do osiągnięcia celu badawczego liczba zwierząt w poszczególnych grupach została zredukowana do minimum, zgodnie z wymogami statystycznymi.

Zasada udoskonalenia

Zwierzęta będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla danego gatunku, a zastosowane metody badawcze w procedurach zostały dobrane tak, aby ograniczały do minimum ból, cierpienie i dystres zwierząt. Czynności wymienione w poszczególnych procedurach będą wykonane przez zgrany, sprawny manualnie zespół, z dużym doświadczeniem w pracy ze zwierzętami laboratoryjnymi.