

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: **Wpływ wyciszenia kinazy MLK4 na uwrażliwienie komórek potrójnie ujemnego raka piersi na chemioterapię.**
2. Czas trwania projektu: 26 miesięcy
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): MLK4, rak piersi, terapia nowotworów, chemiooporność
4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych):

A. Badania podstawowe

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 badań jest dostarczenie informacji na temat dynamiki wzrostu guzów pierwotnych komórek raka piersi charakteryzujących się wysoką ekspresją kinazy serynowo-treoninowej MLK4, w obecności klinicznie stosowanego leku przeciwnowotworowego - doksorubicyny. Rak piersi jest najczęściej diagnozowanym nowotworem złośliwym u kobiet w Polsce i na świecie. Nowotwory piersi niewykazujące ekspresji receptorów steroidowych ani nadekspresji receptora HER-2 klasyfikowane są jako raki potrójnie ujemne. Guzy te cechuje wysoka złośliwość, agresywny przebieg kliniczny i wyjątkowo niekorzystne rokowanie. Z powodu braku punktu uchwytu dla leczenia celowanego, chemioterapia nadal pozostaje jedyną powszechnie stosowaną metodą leczenia systemowego u pacjentów z rakami potrójnie ujemnymi, jednak pierwotna i nabyta oporność komórek nowotworowych na stosowane leki stanowi główną przeszkodę w uzyskaniu skuteczności klinicznej. W naszych badaniach zaobserwowaliśmy wysoki odsetek amplifikacji genu i nadekspresji mRNA kinazy MLK4 w guzach pobranych od pacjentów z raka piersi, a w szczególności raka piersi o podtypie potrójnie ujemnym. Wyniki badań *in vitro* uzyskane przez nasz zespół wskazują na nieopisany do tej pory udział kinazy MLK4 w nabywaniu oporności komórek raka piersi na chemioterapię, poprzez regulację apoptozy i naprawy uszkodzeń DNA. Do uwierzytelnienia i weryfikacji wyników *in vitro* niezbędne jest przeprowadzenie badań w modelu doświadczalnym *in vivo*. W tym celu myszom zostaną podane ludzkie komórki nowotworowe linii HCC1806, które doprowadzą do rozwinięcia guzów nowotworowych u myszy. W doświadczeniu będzie porównywany proces wzrostu guza pierwotnego oraz przerzutowania do innych części ciała między grupami kontrolnymi grupami, w których ekspresja kinazy MLK4 została wyciszona. Obydwie grupy będą obejmowały podgrupy, w których znajdują się myszy, którym będzie

podawana będzie dokсорubicyna lub sól fizjologiczna (podgrupa kontrolna). Oczekiwanym rezultatem będzie zrozumienie jaki wpływ ma kinaza MLK4 na rozwój chemiooporności raka piersi. **Ponadto, wyniki badań pozwolą określić czy kinaza MLK4 może stać się potencjalnym biomarkerem i/lub celem terapeutycznym w terapii chemioopornych nowotworów piersi.**

Rozwój choroby nowotworowej i chemioterapia wiążą się z występowaniem objawów, które mogą być źródłem dyskomfortu dla zwierząt. Wszystkie procedury opisane we wniosku zostały zaplanowane tak, aby ograniczyć do minimum stres oraz dyskomfort zwierząt użytych w doświadczeniu. Planujemy jednak uśmiercenie zwierząt zanim choroba rozwinie się do stadium, w którym zwierzę doświadczałoby cierpienia. Wyznaczone przez nas kryteria stanu zaawansowania choroby (odwodnienie, utrata masy ciała powyżej 20%, nasilona martwica w miejscu podania komórek nowotworowych, objawy kliniczne rozsianej choroby nowotworowej, średnica guza pierwotnego przekraczająca 15 mm) są parametrami uznanymi dla danych modeli i stosowanymi przez inne grupy badawcze na świecie.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mysz domowa (RAG2^{-/-}) - 55

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Podczas projektowania doświadczenia sprawdzona została istniejąca wiedza na temat prowadzenia badań objętych wnioskiem badawczym. Wykorzystano słowa kluczowe: MLK4, breast cancer, mouse model, xenografts, chemoresistance, doxorubicin. Na podstawie przeszukania istniejącej literatury oraz baz danych (EBSCO, PUBMED, Google Scholar, ScienceDirect), stwierdzono że brak jest danych umożliwiających zweryfikowanie proponowanej hipotezy badawczej. Doświadczenia zostały zaplanowane w myśl zasad zastąpienia, ograniczenia i udoskonalenia. Po pierwsze przeprowadziliśmy szereg doświadczeń *in vitro* w modelu linii komórkowych raka piersi. Doświadczenia objęły: testy proliferacji, pomiar aktywacji apoptozy, pomiar uszkodzenia DNA i analizę wybranych markerów metodą immunoblottingu. Wyniki doświadczeń *in vitro* wskazują, iż kinaza MLK4 ma istotny wpływ na proces rozwoju chemiooporności raka piersi co daje podstawę do dalszych doświadczeń na modelu mysim. Doświadczenia *in vivo* będą miały na celu poszerzenie wyników uzyskanych metodami *in vitro*

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

oraz ocenę wpływu kinazy MLK4 na chemiooporność guzów utworzonych przez komórki nowotworowe *in vivo*. Planowane badania uwzględniają ich wykonanie na najmniejszej możliwej liczbie zwierząt w poszczególnych grupach. Przewidziana liczba zwierząt jest niezbędna do przeprowadzenia prawidłowej interpretacji otrzymanych wyników, ważnych statystycznie oraz bez konieczności powtórzenia doświadczeń. Obliczenia zostały wykonane używając strony internetowej <http://biomath.info/power/index.htm> pozwalającej określić najmniejszą liczebność dzięki której można zweryfikować hipotezę.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

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

TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy

X NIE

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