

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1.Tytuł projektu: „*Wpływ Białka Indukowanego Prolaktyną (ang. Prolactin Inducible Protein) na proces progresji ludzkiego raka gruczołu piersiowego oraz apoptozę indukowaną doksorubicyną*”.

2.Czas trwania projektu 01.06.2016-.01.06. 2017

3.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): *Białko indukowane prolaktyną, PIP, myszy Balb/c nu/nu, doksorubicyna, programowana śmierć komórki.*

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.

Nowotwory piersi są największym problemem onkologicznym w krajach rozwiniętych, są również narastającym problemem w krajach rozwijających się. W Polsce 16500 tys. kobiet zapada rocznie na raka gruczołu piersiowego. Ze względu na rosnącą liczbę zachorowań oraz coraz młodszy wiek chorych, problem raka piersi staje się problemem społecznym i ekonomicznym. Dlatego identyfikacja kluczowych czynników determinujących skuteczność leczenia oraz dążenie do zapewnienia ich optymalnego wykorzystania – poprawiającego jakość i długość życia kobiet chorych na raka piersi powinno stanowić cel w walce z tą chorobą. Jednym z podstawowych problemów rzutujących

niekorzystnie na lecznicze efekty spowodowane podawaniem cytostatyków jest lekooporność.

Wielolekooporność definiowana jest jako brak wrażliwości na podawane leki, które nie wykazują strukturalnego podobieństwa, a ponadto mają zróżnicowane molekularne punkty uchwytu.

Nasze ostatnie badania wskazują, że zwiększona oporność pacjentek na leczenie standardową terapią adjuwantową (doksorubicyna + cyklofosfamid) jest istotnie skorelowana z niską u nich ekspresją białka PIP [Jabłońska i wsp., 2016].

Wykorzystując specyficzne modele komórkowe wykazaliśmy następnie w testach *in vitro*, że obecność białka PIP w komórkach raka gruczołu piersiowego powoduje ich zmniejszoną przeżywalność i zwiększoną wrażliwość na apoptozę indukowaną doksorubicyną. Wyniki te wymagają bezwzględnie dalszego potwierdzenia badaniami *in vivo*, w których wykorzystane zostaną myszy bezgrasicze Balb/c nu/nu. Zwierzętom tym przeszczepiane będą komórki reprezentujące dwa modele komórkowe raka gruczołu piersiowego, a mianowicie komórki MDA-MB-231 z ektopową ekspresją PIP (model funkcjonalny) i komórki T47D z zahamowaną ekspresją PIP (model niefunkcyjny) w celu uzyskania guzów eksperymentalnych. Zwierzęta poddane zostaną leczeniu za pomocą doksorubicyny. Jest to jedyny sposób poznania takich właściwości komórek nowotworowych jak wzrost w postaci guza i tworzenie przerzutów, a także określenie efektów i monitorowanie terapii przeciwnowotworowej, ponieważ żadne modele *in vitro* nie są w stanie zastąpić w takich badaniach żywego organizmu.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

106 osobników- mysz domowa (*Mus musculus*)- 8 tygodniowe myszy, samice, szczep Balb/c nu/nu.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Planowane badania *in vivo* poprzedzone zostały badaniami klinicznymi oraz badaniami *in vitro*, które wykazały proapoptotyczny charakter białka PIP w leczeniu doksorubicyną.

W badaniach konieczne jest użycie zwierząt ponieważ tylko w żywym organizmie w pełni można zbadać wpływ doksorubicyny na proces nowotworowy komórek modelowych różniących się poziomem ekspresji PIP, który zależny jest od wielu złożonych interakcji pomiędzy komórkami nowotworowymi a

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

komórkami śródbłonna i komórkami układu immunologicznego. Ponadto w badaniach in vitro nie ma możliwości odtworzenia układu odzwierciedlającego stan fizjologiczny obserwowany podczas rozwoju przerzutów nowotworowych w organizmie. Na tej podstawie, zgodnie z międzynarodowymi normami badań przesiewowych, wybierane są modele zwierzęce in vivo stanowiące niezbędne poprzedzenie ewentualnych badań klinicznych. Myszy wykorzystywane do zaplanowanych doświadczeń utrzymywane będą w warunkach zapewniających dobrostan zwierząt. Zaplanowane procedury zaprojektowano tak, by możliwie maksymalnie ograniczyć liczbę zwierząt w badaniu oraz by zminimalizować ból, cierpienie i dystres wykorzystywanych zwierząt. W przypadku zaobserwowania znacznego pogorszenia stanu zdrowia zwierząt zostanie zastosowane wczesne, humanitarne zakończenie procedury. Ponadto u myszy z wyraźnym guzem nowotworowym stosowany będzie preparat przeciwbólowy, a procedura będzie prowadzona do wielkości guzów nie przekraczającej 2000 mm³. W badaniu zaplanowano wykorzystanie minimalnej liczby zwierząt, takiej która umożliwi uzyskanie istotnych wyników (istotnych statystycznie).

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych:

EBSCO; PUBMED; Google Scholar; AGRICOLA; Science Direct; Web of Science (JCR); Thomson Innovation

Wykorzystałam słowa kluczowe i ich kombinacje: Prolactin Induced Protein, PIP, mice, doxorubicin therapy, apoptosis, caspase-3.

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że: wyniki badań uzyskane w trakcie realizacji projektu pozwolą na zdobycie wiedzy na temat roli białka indukowanego prolaktyną w biologii raka gruczołu piersiowego. Oryginalne wykorzystanie modeli komórkowych MDA-MB-231 z ektopową ekspresją tego białka oraz linii T47D ze stabilnie wyhamowaną jego ekspresją pozwolą na potwierdzenie hipotezy badawczej o pro-apoptotycznym działaniu białka PIP w predykcji standardową terapią adjuwantową (doksorubicyna + cyklofosfamid).

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że: wyniki uzyskane na materiale klinicznym i ustalonych in vitro liniach komórkowych wskazują iż ekspresja białka PIP w komórkach raka gruczołu piersiowego zwiększa ich wrażliwość na cytotoksyczne działanie doksorubicyny, co

najprawdopodobniej wiąże się z ich podwyższoną podatnością na apoptozę indukowaną tym cytostatykiem.

B. Brak jest danych, lub też dane są mało wiarygodne lub nie są sprawdzone w zakresie: brak jest danych dotyczących roli białka PIP w oporności komórek nowotworowych na leczenie z wykorzystaniem doksorubicyny, które prowadzono in vivo, z wykorzystaniem modeli zwierzęcych. Jedynym wyjątkiem są badania z wykorzystaniem komórek MDA-MB-453 raka gruczołu piersiowego z wyhamowaną ekspresją PIP, które przeszczepiano myszom NOD/SCID w celu sprawdzenia wpływu aktywacji kinaz ERK na poziom ekspresji PIP (Naderi A. et al., 2012).

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na: jednoznaczne określenie funkcji tego białka w biologii raka gruczołu piersiowego i jego roli we wrażliwości/oporność komórek raka gruczołu piersiowego na leczenie doksorubicyną.

A/ Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze lub ugruntowanie istniejącej wiedzy w kierunku spersonalizowanej metody leczenia nowotworów raka gruczołu piersiowego w tym nowotworów opornych na leczenie standardową terapią adjuwantową.

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na upowszechnieniu wykorzystania białka PIP do konstrukcji testów diagnostycznych i predykcji raka gruczoł piersiowego.