

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Ocena przeciwprzerzutowej aktywności związków o mechanizmie działania zależnym od prostacykliny, tlenku azotu i tlenku węgla w modelu doświadczalnego przerzutowania komórek mysiego raka sutka u myszy z wyidukowaną dysfunkcją śródbłónka

2. Czas trwania projektu: 20.06.2016-30.08.2016

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): Endothelial dysfunction, platelet activation, metastasis, antimetastatic therapy

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (**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.

Przerzutowanie jest główną przyczyną śmierci wśród osób cierpiących na choroby nowotworowe (około 90%). Pomimo znaczącego postępu medycyny w zakresie walki z nowotworami w dalszym ciągu problem przerzutów jest aktualny. Celem zaproponowanego projektu jest opracowanie nowej strategii hamowania przerzutowania nowotworów złośliwych w oparciu o szlaki aktywacji płytek krwi oraz aktywność metaboliczną śródbłónka naczyń krwionośnych. Przedmiotem badań jest ocena przeciwprzerzutowej aktywności związków opracowanych w sposób zapewniający ich wieloparametrowe oddziaływanie zarówno z płytkami krwi jak i ze śródbłónkiem naczyń krwionośnych. Rozwój dysfunkcji śródbłónka, który towarzyszy procesowi przerzutowania prowadzi do obniżenia naczynioprotekcyjnych mediatorów: tlenku węgla (CO), tlenku azotu (NO) oraz prostacykliny (PGI₂)

uwalnianych przez śródbłonek, co skutkuje między innymi aktywacją płytek krwi oraz sprzyja rozwojowi przerzutów. Dlatego celem badań jest ocena przeciwp przerzutowej aktywności związków opracowanych w sposób zapewniający ich wieloparametrowe oddziaływanie zarówno z płytkami krwi jak i ze śródbłonkiem naczyń krwionośnych. Mechanizm działania badanych substancji jest oparty o mechanizmy zależne od PGI₂, NO oraz CO. Związki będą stosowane zarówno samodzielnie jak i w połączeniu z lekiem o działaniu przeciwpłytkowym. Zostaną zbadane także nowe związki-donory CO, donory NO oraz dwufunkcyjne związki mające zdolność do jednoczesnego generowania NO i CO. Model eksperymentalnego przerzutowania komórek mysiego raka sutka znakowanego lucyferazą oraz białkiem czerwonej fluorescencji 4T1-luc2tdTomato u myszy z wyindukowaną dysfunkcją śródbłonna umożliwi dokładne zbadanie procesów powstających podczas opisanej wyżej terapii u myszy doświadczalnych oraz pozwoli na śledzenie rozwoju przerzutów przeżyciowo. Dzięki wnioskowanym badaniom możliwe będzie wyselekcjonowanie związków, oraz kombinacji związków o najkorzystniejszym profilu aktywności przeciwp przerzutowej do dalszych badań kombinacji najaktywniejszych związków w terapii wielofunkcyjnej, a także zaproponowanie kandydata na lek, możliwy do zastosowania w terapii nowotworów złośliwych.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniu będą wykorzystane myszy samice szczepu BALB/c, 230 sztuk

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzona istniejąca wiedza w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych:

__EBSCO; __PUBMED; __Google Scholar; __AGRICOLA; __ScienceDirect; __Web of Science (JCR); __

Wykorzystano słowa kluczowe:

Endothelial disfunction/carbon monoxide/nitric oxide/prostacyclin/platelet activation/metastasis

DETA-NO/Clopidogrel/CORM-A1/MNA/4T1/4T1-luc2tdTomato

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

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzono że: proces przerzutowania jest wysoce uzależniony od aktywacji płytek krwi oraz rozwoju dysfunkcji śródbłónka [1,2]. Płytki krwi aktywowane przez komórki nowotworowe pomagają im unikać odpowiedzi immunologicznej. Ponadto ułatwiają adhezję komórek nowotworowych do komórek śródbłónka, stymulują angiogenezę oraz wzmacniają proliferację komórek [1,2]. Tak więc, terapia przeciwplatekowa stanowi jedno z obiecujących podejść w leczeniu przerzutowości nowotworowej. Tlenek azotu (NO), tlenek węgla (CO) oraz prostacyklina (PGI₂) są naczynioprotekcyjnymi mediatorami uwalnianymi przez śródbłonek. Cząsteczki te posiadają aktywność przeciwzapalną, przeciwzakrzepową oraz wazodylatacyjną [3,4,5]. W związku z powyższym terapia oparta na mechanizmach uzależnionych od PGI₂, NO, CO cieszy się obecnie dużym zainteresowaniem.

Wcześniej przeprowadzone przez nas eksperymenty *in vitro* wykazały że badane związki posiadają aktywność cytotoksyczną wobec komórek 4T1-luc2-tdTomato w stężeniu do 100 µM. Ponadto zdolne są do hamowania migracji komórek 4T1-luc2-tdTomato oraz ich adhezji do fibronektyny.

W żywym organizmie procesy przerzutowania oraz dysfunkcja śródbłónka zależą również od złożonych interakcji pomiędzy komórkami śródbłónka, komórkami układu immunologicznego, płytkami krwi, a komórkami nowotworowymi. Niemożliwe jest odtworzenie *in vitro* układu doświadczalnego imitującego stan fizjologiczny obserwowany podczas rozwoju przerzutów nowotworowych w organizmie. Dlatego też wykorzystanie modelu zwierzęcego jest kluczowe dla oceny działania terapeutycznego badanych związków.

W doświadczeniach zaplanowano wykorzystanie minimalnej liczby zwierząt umożliwiającej uzyskanie istotnych wyników.

Zwierzęta 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.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na: ocenę skuteczności terapii przeciwprzerzutowej z wykorzystaniem związków o mechanizmach działania uzależnionych od PGI₂,

NO, CO. Wyniki zaproponowanego projektu pozwolą także na wyselekcjonowanie związków oraz kombinacji związków o najkorzystniejszym profilu aktywności przeciwprzerzutowej do dalszych badań kombinacji najaktywniejszych związków w terapii wielofunkcyjnej.

- [1] [Endothelium and cancer metastasis: Perspectives for antimetastatic therapy.](#) Blazejczyk A, Papiernik D, Porshneva K, Sadowska J, Wietrzyk J. Pharmacol Rep. 2015 Aug;67(4):711-8. doi: 10.1016/j.pharep.2015.05.014. Epub 2015 Jun 2.
- [2] [Metastasis: new functional implications of platelets and megakaryocytes.](#) Leblanc R, Peyruchaud O. Blood. 2016 May 6. pii: blood-2016-01-636399. [Epub ahead of print]
- [3] [Nicotinamide phosphoribosyltransferase \(Nampt\) in carcinogenesis: new clinical opportunities.](#) Chen H, Wang S, Nice EC, Zhang H, Huang C. Expert Rev Anticancer Ther. 2016 May 17.
- [4] [Nitric oxide in cancer metastasis.](#) Cheng H, Wang L, Mollica M, Re AT, Wu S, Zuo L. Cancer Lett. 2014 Oct 10;353(1):1-7. doi: 10.1016/j.canlet.2014.07.014
- [5] [Upregulation of heme oxygenase-1 in colorectal cancer patients with increased circulation carbon monoxide levels, potentially affects chemotherapeutic sensitivity.](#) Yin H, Fang J, Liao L, Maeda H, Su Q. BMC Cancer. 2014 Jun 14;14:436. doi: 10.1186/1471-2407-14-436.