

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1.Tytuł projektu: „Znaczenie czynników transkrypcyjnych związanych z przejściem epitelialno-mezenchymalnym i miogenezą w rozwoju mięsaka prążkowanokomórkowego – część I”

2.Czas trwania projektu: 24 miesiące

3.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): mysz model (ang. *mouse model*); NOD-SCID; nowotwór (ang. *tumor*); iPS; mięsak prążkowanokomórkowy (ang. *rhabdomyosarcoma*)

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

Mięsak prążkowanokomórkowy (RMS) jest najczęstszym nowotworem tkanek miękkich u dzieci i młodzieży. Przyczyny rozwoju RMS nie są do końca znane, ale wydaje się, że jego rozwój jest związany z błędami różnicowania komórek macierzystych. Pacjenci z zespołem Li-Fraumeni (LFS) są szczególnie podatni na wystąpienie RMS, co jest związane z mutacją w genie TP53. Przejście epitelialno-mezenchymalne (EMT) można zdefiniować jako serie zmian morfogenetycznych, wpływających na zwiększenie ruchliwości, inwazyjności, oraz zdolności do przerzutowania komórek nowotworowych. W naszych badaniach wysnuiliśmy hipotezę, że czynniki transkrypcyjne związane z EMT bezpośrednio lub poprzez interakcję z czynnikami miogennymi mogą odgrywać kluczową rolę w rozwoju RMS.

W naszym projekcie wykorzystamy indukowane pluripotencjalne komórki macierzyste (iPS) pochodzące od

pacjentów z LFS oraz iPS pozbawione ekspresji genu TP53 stworzone przy pomocy modyfikacji genetycznej. Komórki będą różnicowane w kierunku linii miogennej i mezenchymalnej, aby określić, który typ komórek jest odpowiedzialny za rozwój RMS. Ponadto otrzymamy ludzkie linie komórek iPS o zmniejszonej lub zwiększonej ekspresji czynników transkrypcyjnych związanych z EMT i z miogenezą w celu określenia wzajemnych oddziaływań pomiędzy tymi czynnikami transkrypcyjnymi podczas nowotworzenia. . Po dokładnych testach in vitro mających na celu wybranie czynników najbardziej znaczących zostanie przeprowadzona druga część testów in vivo, ludzkie komórki mięśniowe i mezenchymalne komórki macierzyste otrzymane poprzez różnicowanie komórek iPS zostaną wstrzyknięte podskórnie i dożylnie myszom z obniżoną odpornością, aby zbadać ich zdolność do tworzenia guzów i przerzutów.

Nasze badania pozwolą poznać mechanizmy leżących u podstaw RMS i w przyszłości mogą stworzyć możliwość opracowania narzędzi terapeutycznych, które mogą być stosowane w badaniach klinicznych.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

54 – mysz domowa NOD-SCID

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: PUBMED, Google Scholar, Science Direct, Web of Science (JCR). Wykorzystano słowa kluczowe: mouse model, NOD-SCID, tumor, iPS, rhabdomyosarcoma. Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam, że zaplanowane we wniosku procedury są skonstruowane zgodnie ze standardami opisywanymi w literaturze i powszechnie stosowanymi w ośrodkach naukowych na świecie. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że badania z wykorzystaniem modeli zwierzęcych są istotnym elementem badań przedklinicznych mających na celu opracowanie skutecznych metod terapeutycznych oraz że myszy są gatunkiem zwierząt przyjętym powszechnie jako model we wstępnych badaniach wzrostu nowotworów przed przejściem do etapu badań klinicznych. Brak jest danych dotyczących dokładnej roli czynników transkrypcyjnych związanych z przejściem epitelialno-mezenchymalnym i miogenezą w rozwoju i progresji nowotworu mięsaka prądkowokomórkowego (rhabdomyosarcoma) z wykorzystaniem modelu indukowanych

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

pluripotencjalnych komórek macierzystych iPS. Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku dokładnego poznania mechanizmów rozwoju i przerzutowania mięsaka prążkowanokomórkowego. W przyszłości zastosowanie uzyskanej wiedzy może polegać na tym, że przebadane podczas realizacji projektu geny mają szansę zostać dobrymi kandydatami do dalszych terapii.

Zastąpienie

Aby osiągnąć zamierzony cel nie można proponowanych badań przeprowadzić przy użyciu metod alternatywnych np. tylko hodowli komórkowych lub bezkręgowców. Badania in vivo na ssakach są niezbędnym etapem określenia efektywności i skuteczności opracowywanej metody terapeutycznej przed przystąpieniem do badań klinicznych z udziałem pacjentów. Wieloczynnikowość mechanizmów regulujących procesy życiowe oraz ogromny wpływ mikrośrodowiska danego narządu na zachowanie się przeszczepionych komórek, sprawia, iż niemożliwe jest dokładne odtworzenie całego układu doświadczalnego w warunkach in vitro. Żadne, nawet najlepsze modele tkanek i organów nie zastąpią warunków panujących in vivo, a takie są potrzebne do określenia potencjału do przerzutowania komórek nowotworowych.

Udoskonalenie

Ośrodek w którym będą prowadzone badania posiada duże doświadczenie w hodowli oraz w doświadczeniach z użyciem myszy szczepu NOD-SCID, a także we wszczepianiu komórek myszom z upośledzonym układem odpornościowym. Gwarantuje to minimalizację cierpienia i stresu zwierząt nie tylko w trakcie eksperymentów, ale też w codziennej hodowli. W celu udoskonalenia warunków bytowych zwierząt podczas prowadzenia eksperymentu, oprócz zapewnienia podstawowych warunków temperatury i wilgotności odpowiednich dla ich gatunku, każda z klatek dla zwierząt zostanie odpowiednio wzbogacona.

Ograniczenie

Liczba zwierząt planowanych do użycia w doświadczeniu została zminimalizowana do ilości koniecznej do uzyskania wyników o odpowiedniej mocy statystycznej, żeby w sposób wiarygodny odpowiedzieć na zadane pytania badawcze i wysnuć wiarygodne wnioski z przeprowadzonego doświadczenia.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na rozwój nowych strategii terapeutycznych w leczeniu nowotworu mięsaka prążkowanokomórkowego. Projekt może mieć duży potencjalny wpływ na rozwój terapii nowotworów w przyszłości w Polsce i na świecie.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- ☐ NIE

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