

mgr Aleksandra Filipiak-Duliban

**Modele 3D jako alternatywne metody badań
lekooporności nowotworów**

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: prof. dr hab. Claudine Kieda

Promotor pomocniczy: dr Klaudia Brodaczewska

Klinika: Laboratorium Onkologii Molekularnej i Terapii Innowacyjnych;
Wojskowy Instytut Medyczny w Warszawie



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2022 r.

Streszczenie

Syngeniczne modele zwierzęce są jednym z najlepszych modeli do badań nad terapiami nowotworowymi. Jednak nie zawsze mogą one zostać wykorzystane, często przez ich wysoki koszt, czy też z powodów etycznych. Z tych względów wybierane są dwuwymiarowe modele komórkowe. Metoda ta posiada wiele zalet, jednak nie uwzględnia szeregu ważnych aspektów tworzących naturalne środowisko guza. Alternatywą tych modeli są hodowle trójwymiarowe. Do tej pory opracowano ich wiele, ale ze względu na różne czynniki, np. wysoki koszt, czy trudność w powtórzeniu skomplikowanych technik, szerokie zastosowanie 3D w badaniach komórkowych jest ograniczone. Celem niniejszej pracy było opracowanie uniwersalnego, prostego, trójwymiarowego modelu, który będzie naśladował zjawiska zachodzące w mikrośrodowisku guza. Postawiono nacisk na: trójwymiarowy kształt guza, gradient ciśnienia tlenu oraz indukcję mechanizmów zwiększających agresywność nowotworu (takie jak: CSC, EMT). Ponadto opracowany model miał być łatwą alternatywą do badań z zastosowaniem leków oraz miał umożliwić zbadanie mechanizmów powodujących indukcję lekooporności. W celu zweryfikowania uniwersalności oraz użyteczności proponowanego modelu, wykorzystano dwa różniące się od siebie mechanizmem działania zwierzęce modele nowotworów – czerniak (B16F10) oraz rak nerki (RenCa). Opracowane modele porównano z odpowiadającymi im syngenicznymi modelami mysimi oraz modelami dwuwymiarowymi. Wykonano szereg testów z wykorzystaniem terapeutyków cechujących się różnym mechanizmem działania (ewerolimus, cisplatyna, doksorubicyna). Wykazano, że model czerniaka oraz raka nerki hodowlach trójwymiarowych, cechują różne mechanizmy związane z progresją raka – w raku nerki wzrosła populacja komórek o fenotypie CSC, natomiast w modelu czerniaka doszło do indukcji zjawiska EMT. Udowodniono, że zaproponowane modele odwzorowują mikrośrodowisko guza pod względem założonych cech. Wykazano, że sferoidy nowotworu skóry, wykazują mniejszą wrażliwość na wszystkie zastosowane leki, natomiast dla nowotworu nerki obserwowano niską wrażliwość tylko na doksorubicyna. Stwierdzono, różnica w wrażliwościach na leki między hodowlami dwu- i trójwymiarowymi nie wynika z kształtu sfery, ani ekspresji MDR1 i mTor. W analizie NGS oraz w późniejszych badaniach w sferoidach zweryfikowano wzrost ekspresji genów należących do cytochromu p450. Mimo to nie udało się zidentyfikować zmian powodujących lekooporność w sferoidach, wykazano, że hodowla 3D może być istotna w badaniach nad fizjologią raka i może zostać wykorzystana do testów, z zastosowaniem komórek pochodzących od pacjentów, jako klinicznie istotny i łatwo dostępny instrument.