

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: **Rola cytokeratyny 14 w mechanizmie powstawaniu przerzutów – badania na mysim modelu raka jelita grubego**

2. Czas trwania projektu: **26.03.2018-25.03.2023**

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): **wirus cytomegalii, rak jelita grubego, przerzuty, cytokeratyna 14**

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

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.

Cel doświadczenia: badania podstawowe

Rodzaj badań: onkologia, niezależnie od badanego układu

Rak jelita grubego jest trzecim, wśród mężczyzn, oraz drugim, wśród kobiet, najczęściej diagnozowanym typem nowotworu w całej populacji ludzkiej. Udokumentowano także, że wirus cytomegalii CMV sprzyja powstawaniu przerzutów u ludzi z chorobą nowotworową, w tym u pacjentów z rakiem jelita grubego. Dokładny mechanizm powstawania przerzutów w raku jelita grubego, w którym pośredniczy wirus CMV nigdy wcześniej nie został określony. Wyniki naszych poprzednich doświadczeń na myszach wskazały, że proces powstawania przerzutów jest ściśle związany z faktem infekcji wirusem CMV, powodującym wzrost ilości białka w komórkach nowotworowych, zwanego cytokeratyną 14 (CK14). Cytokeratyny w postaci białkowych włókien spełniają funkcję podporową komórki. W komórkach nowotworowych często dochodzi do zmiany ilości (ekspresji) różnych rodzajów cytokeratyn. Wnioskowane doświadczenie na myszach BALB/c ma na celu sprawdzenie, czy CK14 jest odpowiedzialna za wzmożoną przerzutowość komórek nowotworowych do innych organów ciała, co w przyszłości może zostać wykorzystane do opracowania nowych terapii onkologicznych.

Myszy przeznaczone do badań (n=32) zostaną podzielone na 2 grupy. Jednej zostaną wszczepione śródskórnie komórki mysiego raka jelita grubego CT26 (kontrola), drugiej-komórki CT26 zmodyfikowane genetycznie tak, by wytwarzać kilkakrotnie więcej CK14. Rosnące guzy będą mierzone suwmiarką w celu zaobserwowania różnic we wzroście, a po osiągnięciu średnicy 1cm, zostaną wycięte w znieczuleniu ogólnym i utrwalone do dalszych analiz. Po 2 miesiącach od operacji, myszy zostaną uśmiercone poprzez przedawkowanie pentobarbitalu, a organy (mózg, płuca, wątroba) –pobrane w celu wykrycia przerzutów. Wszystkie dotkliwe czynności będą prowadzone w znieczuleniu ogólnym, a po operacji będzie zwierzętom podawany lek przeciwbólowy. Myszy będą pod ścisłą obserwacją przez cały okres trwania doświadczenia i w razie zaobserwowania pogarszającego się samopoczucia zwierząt (objawy: osowiałość, zaniedbana, nastroszona sierść, spadek wagi), będą one natychmiast usypiane.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mysz domowa BALB/c (32 szt.)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Zastąpienie:

Polegało na przeprowadzeniu wielu doświadczeń *in vitro* (na szalkach w laboratoriach) z wykorzystaniem komórek nowotworowych CT26, m.in. analizie ich zdolności do dzielenia się oraz przemieszczania się (inwazji i migracji) pod wpływem mysiego wirusa CMV. Po zebraniu wyników wstępnych przeprowadzono doświadczenie na zwierzętach, które zrealizowano po wyczerpaniu możliwości zebrania nowych danych naukowych w układzie *in vitro*.

Ograniczenie:

Nagromadzony dotychczas materiał badawczy z doświadczeń *in vivo* pozwolił na stwierdzenie, że: u myszy BALB/c, którym wszczepiono śródskórnie komórki CT26 zakażone MCMV, guzy pojawiające się w miejscu wszczepienia osiągają niewielkie rozmiary, natomiast w płucach pojawiają się liczne przerzuty o znacznej powierzchni. U myszy, którym zostały wszczepione komórki CT26 niezakażone MCMV, guzy osiągają znaczne rozmiary, a przerzuty są mniej liczne. Dalsze analizy wyciętych guzów i przerzutów do płuc wykazały, że pod wpływem wirusa MCMV dochodzi do zwiększenia ilości CK14 w porównaniu z materiałem kontrolnym. Aby potwierdzić hipotezę mówiącą o zmianie ilości cytokeratyny odpowiedzialnej za zwiększoną zdolność komórek nowotworowych do tworzenia przerzutów, niezbędne jest przeprowadzenie zaplanowanej procedury, w której będzie wyeliminowany wpływ MCMV, a myszom zostaną podane zmodyfikowane komórki CT26 produkujące zwiększoną ilość cytokeratyny 14. Uzyskanie w niniejszej procedurze podobnych wyników do rezultatów osiągniętych w doświadczeniu z infekcją CMV ostatecznie pozwoli potwierdzić mechanizm progresji raka jelita grubego. Upřednie doświadczenie pozwoliło wytypować jedną „spośród wielu rodzajów cytokeratyn, której rola zostanie zbadana w niniejszej procedurze, a co pozwoliło na ograniczenie liczby procedur badających wpływ innych cytokeratyn (a więc również liczby zwierząt doświadczalnych). Wnioskowana procedura ogranicza liczbę myszy do 32 szt., w celu zebrania wiarygodnych statystycznie danych na podstawie poprzedniej procedury *in vivo*.

Udoskonalenie:

Nasz zespół posiada znaczące doświadczenie w pracy ze zwierzętami, w tym z myszami BALB/c, a wszystkie procedury zostały zaplanowane na podstawie uzyskanej przez nas dotychczas wiedzy wyniesionej z eksperymentów

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

przeprowadzonych z przeszłości tak, by zminimalizować dotkliwość procedur. Myszy będą przebywały w klatkach z wzbogaceniami (papierowe tunele, materiał do robienia gniazd).

Zwierzętom zostaną podane komórki w znieczuleniu wziewnym (izofluran), a guzy będą usuwane w znieczuleniu ogólnym dootrzewnowym (ketamina i ksylazyna). Po operacji mysz będą izolowane od myszy nieoperowanych (tych, którym guzy nie urosną) w celu zapewnienia im spokoju. Przez 3 doby po operacji zwierzętom będzie podawany w wodzie do picia paracetamol w celu ograniczenia bólu pooperacyjnego.

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.