

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Badanie przerzutów u myszy po iniekcji komórek ludzkich linii raka jelita grubego HT-29 w obecności mikropęcherzyków płytkowych.

2. Czas trwania projektu: 1 marca 2020 – 31 sierpnia 2022

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): CXCR4, platelet microparticles, platelets, colorectal cancer cells, *in vivo* mouse model of colorectal cancer

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.

Jak dotąd nie określono mechanizmu poprzez który mikrocząstki pochodzenia płytkowego przyczyniają się do nasilonej metastazy. Celem planowanego badania będzie określenie roli receptorów (a w szczególności receptora CXCR4), które są przenoszone z mikrocząsteczek na komórki rakowe, na progresję nowotworową w modelu zwierzęcym. W tym celu wstrzykniemy myszom szczepu CBy.Cg-Fox1 dożylnie (iniekcja poprzez żyłę ogonową) komórki dwóch linii raka jelita grubego o zróżnicowanej inwazyjności: HT29 oraz SW620 w połączeniu lub bez połączenia z mikropęcherzykami uzyskanymi z ludzkich płytek krwi. Dzięki zastosowaniu modelu o obniżonej odporności, możliwe będzie podanie myszom poprzez iniekcję ludzkich nowotworowych linii komórkowych bez ryzyka wywołania natychmiastowej niepożądanego odpowiedzi immunologicznej, związanej z obecnością

komórek innego gatunku. Po iniekcji myszy będą obserwowane przez 6 tygodni. Krew będzie pobierana z zatoki oczodołowej tylnej co tydzień w celu dalszej oceny markerów stanu zapalnego. Po 6 tygodniach myszy zostaną uśmiercone, krew zostanie pobrana z żyły głównej, wątroba i płuca usunięte, utrwalone i zabezpieczone w bloczkach parafinowych.

Uzyskanie danych z planowanego doświadczenia pozwoli na poznanie roli mikrocząstek pochodzenia płytkowego, a w szczególności receptora CXCR4 na ich powierzchni, w nasileniu progresji nowotworowej oraz zwiększeniu metastazy komórek rakowych. Ponadto, wyniki uzyskane w modelu mysim *in vivo* mogą stanowić podstawę do poszukiwania sposobu na kontrolowanie poziomu białek kluczowych w aspekcie metastazy na powierzchni płytek krwi. Celowana terapia polegająca na obniżeniu ekspresji CXCR4 na megakariocytach oraz płytkach krwi może prowadzić do zmniejszenia szkodliwej roli płytek krwi w procesie nowotworzenia bez ingerencji w ich rolę w zapewnieniu prawidłowej hemostazy ustroju.

## 6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mus musculus, mysz domowa, Cby.Cg-Foxn1nu/cmdb, samice w liczbie 66 osobników

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA<sup>1</sup>

W literaturze naukowej brak jest badań z wykorzystaniem zwierzęcego modelu *in vivo* nad możliwością modulacji stopnia inwazyjności raka jelita grubego poprzez receptor CXCR4 obecny na mikrocząstkach płytkowych, które wniknęły do komórek rakowych. Zaplanowane badania, mające na celu określenie mechanizmu poprzez który mikrocząstki pochodzenia płytkowego przyczyniają się do nasilonej metastazy komórek nowotworowych w rozwoju raka jelita grubego, zostały już częściowo wykonane pilotażowo w warunkach *in vitro*, badania *in vivo* nie mogą być wykonane na innym modelu doświadczalnym. Żaden sztuczny układ nie jest w stanie odwzorować warunków panujących w żywym organizmie. Wybrany przez nas model podawania komórek różnych linii nowotworowych,

<sup>1</sup> Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

zawierających lub nie mikrocząstki pochodzenia płytkowego, jest optymalny i adekwatny do spodziewanych wyników. Przygotowany przez nas protokół zawiera opis objawów wskazujących na cierpienie zwierzęcia, co będzie uwzględniane podczas monitorowania zwierząt w trakcie procedury oraz podejmowania decyzji o wcześniejszym uśmiercaniu zwierzęcia. Metody przez nas zaplanowane, w szczególności ilości podawanych komórek linii nowotworowych oraz zaplanowana częstotliwość wykonywania poszczególnych czynności w procedurach, zostały opracowane przez inne zespoły badawcze do analiz procesu nowotworzenia w innych typach nowotworów. Do wyliczenia minimalnej liczności w grupach badanych zastosowano dane uzyskane we wcześniejszych naszych badaniach. Na podstawie obserwacji zwierząt będziemy mogli w razie potrzeby zwiększyć lub zmniejszyć ilość podawanych komórek aby przerzuty nie były zbyt rozległe. Potencjalne zmiany w ilości podawanych komórek nie zwiększą objętości podawanego płynu, jedynie stężenia. Zaplanowane przez nas szczegóły dotyczące procedur mieszczą się w ramach opisywanych w literaturze metod, według naszej wiedzy zostały przez nas wybrane optymalnie, dając pewność dobrze wykonanego eksperymentu.

#### 8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną<sup>2</sup>

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

---

<sup>2</sup> Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.