

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Ocena wpływu białka ykl-40 na przerzutowanie w modelu z dożylnym podaniem komórek raka gruczołu piersiowego.

2. Czas trwania projektu 1,5 roku

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) przerzutowanie, dysfunkcja śródbłonna, YKL-40

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.

Chitynaza 3-podobna 1 (CH3L1), znana również jako YKL-40, jest ściśle zaangażowana w rozwój chorób układu krążenia oraz chorób nowotworowych, m.in. poprzez wpływ na zapalenie śródbłonna, wydzielanie cytokin zapalnych oraz innych białek uczestniczących w procesie angiogenezy towarzyszącej wzrostowi guza nowotworowego.

Celem projektu jest ocena czy białko YKL-40 wspomaga również proces przerzutowania. Dane zawarte w piśmiennictwie pokazują, że bardzo często poziom YKL-40 jest podwyższony u pacjentów z przerzutami w porównaniu do pacjentów z chorobą miejscowo zaawansowaną, a także wysokie stężenie YKL-40 wiąże się z złymi rokowaniami.

Badania zostaną przeprowadzone z wykorzystaniem komórek ludzkiego raka gruczołu piersiowego

MDA-MB-231 luc-RFP, ludzkiego glejaka U87 oraz e komórki U87 KO (ang knock down) które nie będą produkować białka YKL-40.

W dniu 0 planowane jest podanie myszom komórek U87 lub U87 KOKO podskórnice. Następnie w wybranym punkcie czasowym, który zostanie ustalony na podstawie wcześniejszych badań, myszom do żyły ogonowej bocznej zostaną podane komórki nowotworowe MDA-MB-231 luc-RFP. Wcześniejsze zaszczepienie myszy komórkami U87 lub U87KO (produkujących lub nieprodukujących białko YKL) a następnie podanie tym samym myszom komórek MDA-MB-231luc-RFP, i ocena ich ilości w płucach, pozwoli na ocenę zależności wydajności procesu przerzutowania od produkcji YKL-40. Po 2 tygodniach od wszczepienia komórek myszy zostaną poddane eutanazji, pobrana zostanie krew i płuca do dalszych analiz. Wyniki intensywności fluorescencji odzwierciedlające ilość komórek MDA-MB-231 w płucach, dla myszy zaczeplonych U87, którym dożylnie podane zostały komórki MDA-MB-231 luc-RFP porównywane będą wynikami dla myszy zaszczepionych U87KOKO którym dożylnie podane zostały komórki MDA-MB-231 luc-RFP.

W drugim modelu w dniu 0 planowane jest podanie myszom komórek U87 lub U87KO podskórnice w prawy bok przy jednoczesnym podaniu z lewej strony komórek MDA-MB-231 luc-RFP. Taki model pozwoli na ocenę wpływu YKL-40 na proces EMT. Ponadto ocenie zostanie poddane tempo wzrostu guza MDA-MB-231luc-RFP u myszy zaczeplonych również komórkami U87 i U87KO. Porównując wyniki z modelu dożylnego oraz podskórnego można będzie również określić, na który etap przerzutowania wpływa YKL-40.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

53 - mysz domowa (*mus musculus*)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując wniosek dokonano szerokiego rozeznania w zakresie objętym wnioskiem. W przeszukiwanych przez nas bazach danych (PubMed, Research Gate, Web of Science, Google Scholar) znaleziono informacje świadczące jedynie o podniesionym poziomie YKL-40 u ludzi z chorobą nowotworową. Nie ma jednak ukazanej korelacji pomiędzy liczbą przerzutów a stężeniem YKL-40 w organizmie, które, jak pokazują nasze badania, jest znacznie większe u osobnika z nowotworem. Piśmiennictwo również nie odpowiada na pytanie, czy białko YKL-40 w sposób bezpośredni oddziałuje na komórki nowotworowe, czy jest zaledwie mediatorem pośredniczącym w procesie przerzutowania poprzez uszkodzenie śródbłonna na wczesnym etapie progresji nowotworowej. Ponieważ w żywym organizmie dysfunkcja śródbłonna oraz proces przerzutowania zależą od złożonych interakcji pomiędzy różnymi komórkami, niezbędne jest wykorzystanie modelu zwierzęcego. Jedynie 0,01 % komórek opuszcza miejsce guza pierwotnego. Po wnikięciu do krwiobiegu komórki nowotworowe są, bowiem narażone na działanie komórek układu odpornościowego gospodarza. Uważa się, że tylko około 0,1% komórek nowotworowych, które dostały się do krążenia jest w stanie przeżyć i dać początek ewentualnym przerzutom. Z tego powodu wprowadzono model podskórny oraz dożylny w modelu zwierzęcym. Uzyskane dane pozwolą nie tylko określić czy YKL-40 wspomaga proces przerzutowania, ale również określić, na którym etapie przerzutowania YKL-40 działa, co jest możliwe do ustalenia tylko w żywym organizmie. Ponadto uzyskane dane z proponowanego projektu będą wykorzystane w przyszłych badaniach – w testowaniu nowych inhibitorów chitynaz jako potencjalnych leków w terapii przeciwnowotworowej u ludzi. Metody badań in vitro wykazują szereg ograniczeń, które powodują, że wyniki często nie odpowiadają zjawiskom obserwowanym w warunkach in vivo. Głównym ograniczeniem metod in vitro jest brak możliwości oszacowania wpływu układu odpornościowego na wszystkie aspekty rozwoju, przebiegu, a także regresji choroby. Dlatego też, użycie modelu zwierzęcego jest niezbędne do osiągnięcia postawionego celu.

W doświadczeniach zaplanowano wykorzystanie minimalnej liczby zwierząt umożliwiającej uzyskanie istotnych wyników. Liczba ta została ustalona na podstawie wzoru, biorąc pod uwagę różnice, jakie obserwowaliśmy in vitro i spodziewamy się zaobserwować podczas analizy fluorescencji płuc z komórkami MDA-MB-231 luc-RFP.

Zwierzęta wykorzystywane do zaplanowanych doświadczeń utrzymywane będą w warunkach,

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

zapewniających dobrostan zwierząt. Utrzymywane będą w pomieszczeniach klimatyzowanych ze stałym dostępem do wody i standardowej paszy dla gryzoni, ze wzbogaceniami takimi jak materiał gniazdowy czy domki. Ponadto, będą miały zapewniony stały nadzór weterynaryjny, a ich stan zdrowia będzie codziennie monitorowany. Zaplanowane procedury zaprojektowano tak, by możliwie maksymalnie ograniczyć liczbę zwierząt w badaniu oraz by zminimalizować ból. Wszystkie procedury przeprowadzane będą przez wykwalifikowany personel. W razie zaobserwowania u zwierząt oznak bólu, podawane będą środki o działaniu przeciwbólowym lub zwierzę będzie poddawane wcześniejszej eutanazji. Co więcej, sam model, w swojej pierwotnej postaci jest powszechnie używany w badaniach nad przerzutowaniem komórek nowotworowych niepowodującym nadmiernego bólu i dyskomfortu.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

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

X NIE

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