

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Badanie melanizacji guzów pierwotnych i przerzutów czerniaka u gospodarza mysiego**

2. Czas trwania projektu2 lata

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) melanoma, przerzutowanie, melanina

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.

Czerniak to złośliwy nowotwór, wywodzący się z melanocytów – komórek barwnikowych. Melanizacja jest jednym z najbardziej charakterystycznych cech tego nowotworu, jednak większość badań całkowicie pomija obecność melaniny w komórkach czerniaka, a jej ilość oraz rodzaj może mieć ogromne znaczenie dla rozwoju, przerzutowania oraz oporności czerniaka na stosowane terapie antynowotworowe.

W hodowli *in vitro* komórki tego samego czerniaka mogą rosnąć w postaci silnie ubarwionych, słabo ubarwionych lub całkowicie amelanotycznych, więc melanizacja *in vitro* może być w znacznym stopniu kontrolowana ⁵. W warunkach *in vivo* natomiast melanizacji nie da się tak łatwo kontrolować ² a proces ten nie jest do końca poznany.

Celem niniejszego projektu są badania nad melanizacją guzów czerniaka przy wykorzystaniu ustabilizowanych

linii komórek czerniaka od różnych organizmów (człowiek, mysz, chomik), które będą wzrastać *in vivo* u gospodarza mysiego z upośledzonym układem odpornościowym.

W zależności od warunków hodowli *in vitro* oraz *in ovo* (w jajach kurzym) komórki czerniaka będą uzyskiwały określony stopień ubarwienia, a następnie będą inokulowane *in vivo* dożylnie lub podskórnie do myszy. Monitorowany będzie wzrost guzów, po czym zostaną one wyizolowane i oceniony poziom, rodzaj i markery związane z melaniną. Z guzów zostaną wyprowadzone hodowle pierwotne komórek *in vitro*, i ocenione możliwości zmiany profilu ubarwienia (z komórki ubarwionej na nieubarwioną, i odwrotnie). Zdolność do zmian w stopniu ubarwienia prowadzi do wzrostu heterogeniczności komórek w guzie, co może prowadzić do zwiększonej oporności na terapię, ale też do wzmożonego przerzutowania. Dlatego lepsze poznanie mechanizmów odpowiedzialnych za melanizację komórek czerniaka *in vivo* wydaje się krytyczne.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mysz domowa (*Mus musculus*): 105 osobników

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Zarówno badania *in vitro*, jak i modele pośrednie (np. guz nowotworowy w modelu CAM) nie są w stanie oddać złożoności organizmu żywego. Badania mechanizmów przerzutowania nowotworów nie da się ocenić inaczej niż w warunkach *in vivo*. Doświadczenia z udziałem zwierząt laboratoryjnych zostaną przeprowadzone w sposób, który pozwoli na uzyskanie maksymalnej ilości wiarygodnych danych przy wykorzystaniu minimalnej liczby zwierząt i jak największym możliwym ograniczeniu ich cierpienia.

Przedstawione badania zostały zaplanowane na podstawie wykonanych wcześniej eksperymentów pilotowych, co umożliwiło określenie liczebności grup eksperymentalnych w duchu reguły 3R. Uzyskane wyniki zostaną opracowane statystycznie, tak aby przy jak najmniejszej koniecznej liczbie zwierząt eksperymentalnych uzyskać dane istotne statystycznie. Tam gdzie to możliwe, nastąpi podwójne zaślepienie próbek, a także zastosowane zostaną metody nieinwazyjne, co istotnie wpływa na spójność i wiarygodność otrzymanych wyników.

Na podstawie analizy istniejącej literatury badawczej można stwierdzić, że melanizacja, jej rodzaj i nasilenie

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

może być w znacznym stopniu kontrolowana w warunkach *in vitro*. W warunkach *in vivo* natomiast jest to bardzo problematyczne, co pokazuje, że proces ten nie jest do końca poznany, a dokładniej nie są poznane wszystkie czynniki, które wpływają na ubarwienie guzów czerniaka rosnących *in vivo*.

Bezpośrednie wskazanie reguł 3R realizowanych w projekcie:

Replace (zastąpienie): zaplanowane badania nie mogą zostać przeprowadzone poza żywym organizmem; nie istnieją techniki alternatywne, o mniejszym stopniu inwazyjności, niosące tę samą informację w stosunku do technik proponowanych we wniosku.

Reduce (ograniczenie): liczba zwierząt została ograniczona do minimalnej liczby potrzebnej do uzyskania zaplanowanych rezultatów. Kompleksowe podejście do badań pozwala na maksymalizację danych uzyskiwanych z każdego zwierzęcia.

Refine (udoskonalenie): badania nieinwazyjne – oprócz zmniejszenia liczby zwierząt, stresu i bólu w porównaniu do bardziej inwazyjnych technik, prowadzi również do uzyskiwania bardziej spójnych danych (badanie jednego zwierzęcia w różnych punktach czasowych jest lepsze niż badania grupy zwierząt w „single end point measurement”). Zwierzętom zapewnione będą najlepsze warunki i opieka

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.