

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: „**Znaczenie spontanicznego i indukowanego lekami starzenia się komórek raka jajnika dla wewnątrztrzewnowej progresji nowotworu**”

2. Czas trwania projektu: **15 miesięcy**

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): chemioterapia, rak jajnika, starzenie komórkowe, przeszczepy

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

A. Badania podstawowe

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.

Celem projektu jest zweryfikowanie hipotezy, mówiącej, że spontaniczne starzenie się komórek raka jajnika może przyczyniać się do nasilonej progresji nowotworu i/lub jego lekooporności. Teoria ta zakłada, że biologiczne i kliniczne skutki starzenia spontanicznego mogą być odmienne od tych, przypisywanych starzeniu indukowanemu lekami (traktowanemu jako proces hamujący rozwój guza), co wynika z różnic w mechanizmach obu zjawisk i rozwiniętych fenotypach czynnościowych.

Wpływ na rozwój dyscypliny: Zidentyfikowanie roli starzenia komórkowego (replikacyjnego i wywoływanego lekami) w wewnątrztrzewnowej progresji raka jajnika, w tym mediatorów i mechanizmów tego procesu. Proponowane badanie może mieć duże znaczenie dla zaproponowania nowych celów terapeutycznych w leczeniu tego nowotworu. Dodatkową korzyścią dla nauki i medycyny praktycznej może być zidentyfikowanie nieznanego dotąd mechanizmu lekooporności komórek nowotworowych, który wg naszej hipotezy może wynikać z obecności w guzie spontanicznie (replikacyjnie) starych komórek rakowych.

Zwierzęta uczestniczące w badaniu będą narażone na umiarkowany ból i dystres. Ograniczymy dystres u badanych zwierząt poprzez wykorzystanie zoptymalizowanych we wcześniejszych projektach oraz badaniach pilotażowych: liczby wszczepianych komórek rakowych, objętości zawiesiny komórek, czasu trwania doświadczenia oraz stężenia leków podawanych myszom dootrzewnowo

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Myszy NOD SCID (CB17/Icr-Prkdc SCID /IcrCrI): 30 osobników (samice)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Replacement (zastąpienie/zastępowanie):

- Indukcja starzenia komórek rakowych za pomocą leków zostanie przeprowadzona w warunkach in vitro zamiast in vivo, co pozwoli uzyskać ten sam, pożądany efekt, bez narażania zwierząt na dłuższą ekspozycję na leki
- Badania mechanistyczne, uwzględniające molekularne tło zmian progresji komórek rakowych in vivo zostaną przeprowadzone w całości w warunkach in vitro, na komórkach modelowych.

Reduction (zmniejszenie/ograniczenie):

-**redukcja liczby zwierząt.** Dzięki standaryzacji metody tworzenia wewnątrznaczyniowych ksenoprzeszczepów raka jajnika, w tym liczby wszczepianych komórek nowotworowych udało się uzyskać wysoką jak na warunki in vivo homogenność uzyskiwanych wyników badań. To z kolei, uwzględniając zasady statystyki i testy, którymi zwyczajowo analizujemy różnice między grupami w badaniach in vivo, pozwala zaplanować wykonanie wnioskowanego doświadczenia z użyciem 5 osobników na grupę (m.in. na podstawie naszych wyników opublikowanych w: 2016).

- **redukcja czasu trwania doświadczenia.** Te same przesłanki, co wymienione powyżej, wynikające z możliwości wystandaryzowania metody ksenoprzeszczepu w minionych latach pozwalają skrócić czas doświadczenia do 14 dni. Na podstawie dotychczasowej oceny kinetyki rozwoju guzów jajnika w otrzewnej, dzięki systemowi obrazowania IVIS Spectrum wiemy, że 14 dni jest wartością wystarczającą, aby guzy rozwinęły się do odpowiedniej, istotnej klinicznie postaci, ale zarazem, aby nie doszło do towarzyszącego chorobie nowotworowej wyniszczenia zwierząt. W związku z powyższym, punkt końcowy eksperymentu zostanie przeprowadzony w czasie, gdy osobniki poddane badaniu nie będą wykazywały klinicznych oznak choroby nowotworowej (m.in. na podstawie wyników opublikowanych w: 2016).

Refinement (udoskonalenie):

- Dawki leków podawanych myszom zostały tak dobrane w badaniach pilotażowych in vitro, aby nie wykazywały cytotoksyczności względem komórek prawidłowych otrzewnej, tj. mezotelium i fibroblastów, natomiast wykazywały wpływ na komórki raka jajnika

- Zwierzęta będą utrzymywane w systemie klatek indywidualnie wentylowanych IVC (od etapu kwarantanny, przez czas trwania eksperymentu).

- Zwierzęta będą miały wymieniającą ściółkę z zastosowaniem stacji wymiany klatek, której nowatorskie działanie polega na tym, że powietrze wprowadzone w górnej części urządzenia przemieszcza się poprzez filtry wstępne HEPA, uzyskując klasę czystości 4 wg standardu ISO, a następnie przemywa powierzchnię roboczą chroniąc zwierzęta przed skażeniem. W tym samym czasie powietrze zewnętrzne przepływa wzdłuż powierzchni roboczej, zabezpieczając zwierzęta przed wpływem środowiska zewnętrznego,

- Eutanazja z wykorzystaniem komory do eutanazji z użyciem CO₂, zapewniającej stały monitoring przepływu gazu podczas fazy napełniania komory, pracująca w zautomatyzowanych cyklach: napełniania, utrzymania stężenia CO₂ przez pożądany czas oraz oczyszczania. Urządzenie pozwala na eutanazję małych zwierząt laboratoryjnych w ich klatkach bytowych.

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

- Zwierzętarnia wyposażona jest w zautomatyzowany, zdalny system wykrywania zmian klimatu pomieszczeń, który wysyła informację o wszystkich odstępstwach od zadanych wartości temperatury i wilgotności na telefony osób odpowiedzialnych za dobrostan zwierząt w jednostce. Wypracowana procedura operacyjna zakłada także automatyczne powiadomienie o zaistnieniu odstępstwa od zadanych parametrów firmie serwisującej ten system. Dotyczy to zarówno dni tygodnia, jak i weekendów.

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.