

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1.Tytuł projektu: „Wpływ inhibitorów PRMT na proces przerzutowania mięsaka prążkowanego komórkowego”.

2.Czas trwania projektu: 5 lat

3.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów):rhabdomyosarcoma, PRMT, PRMT inhibitors, SAH, AMI-1

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.

Mięsak prążkowanokomórkowy (Rhabdomyosarcoma, RMS) jest jednym z najczęściej występujących nowotworów złośliwych tkanek miękkich wieku dziecięcego. Do tej pory opisano wiele mechanizmów odpowiedzialnych za proces powstawania nowotworu, jednym z nich są nieprawidłowości we wzorach metylacji. Metylacja DNA uznawana jest za najtrwalszą modyfikację epigenetyczną, która odgrywa kluczową rolę w regulacji ekspresji genów oraz różnicowaniu komórek. Grupa enzymów PRMT (ang. *Protein ArginineMethyltransferases*) reguluje aktywację/inaktywację ekspresji genów. Nieprawidłowe stężenie PRMT może przyczynić się do powstania wielu stanów patologicznych, w tym chorób nowotworowych. Mimo licznych publikacji dotyczących blokowania aktywności PRMT w komórkach nowotworowych do chwili obecnej nie został dokładnie zbadany jego wpływ na biologię mięsaka prążkowanokomórkowego.Celem naukowym niniejszego doświadczenia będzie bliższe poznanie roliblokowania aktywności PRMT w procesie nowotworzenia i ekspansjitegonowotworu.Dzięki zastosowaniu w modelu mysim komercyjnie dostępnychinhibitorówPRMT: AMI-1 oraz SAH(zgodnie z procedurą 1 czynność 4 i procedurą 2 czynność 4),oceniony zostanie wpływzablokowaniaaktywności

PRMT na wzrost guza. Planowane badania należą do badań podstawowych, zaliczane są do kategorii dotkliwych. Procedury zostaną wykonane z wykorzystaniem 30 osobników płci męskiej myszy SCID-Beige. Zwierzęta zostaną podzielone na 3 grupy: I – myszy leczone AMI-1, II – myszy leczone SAH, III – grupa kontrolna. W miejscu wszczepienia komórek nowotworowych może pojawić się obrzęk i wysięki, ponadto mogą pojawić się trudności lokomotoryczne oraz trudności w oddawaniu moczu i kału. Wierzimy, że uzyskane wyniki poszerzą istniejącą wiedzę dotyczącą przerzutowania nowotworowego jak również pozwolą na opracowanie nowych strategii terapeutycznych.

Przewidywane szkody w trakcie prowadzenia doświadczenia mogą wiązać się z bólem oraz dystresem zwierząt. Ból i dystres badanych zwierząt będzie ograniczony poprzez podanie środków przeciwbólowych (Butorfanol w dawce 1-2 mg/kg m.c.). Wszystkie czynności w poszczególnych procedurach zostały zaplanowane z jak najmniejszą inwazyjnością oraz przedstawiony został szczegółowy opis zasad: zastąpienia, ograniczenia, udoskonalenia, które w największej dokładności eliminują prawdopodobieństwo wystąpienia szkód.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Myszy SCID-Beige (CB17/Icr-Prkdc^{SCID}/IcrCrI): 30 osobników (samce)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: PubMed, Web of Science, EBSCO. Do tego celu wykorzystałem słowa kluczowe: rhabdomyosarcoma, metastasis, PRMT, PRMT inhibitors, AMI-I, SAH. W trakcie przygotowania doświadczenia zastosowano się do zasad 3R (Replacement, Reduction, Refinement).

Replacement (zastąpienie/zastępowanie):

Pierwsza faza doświadczenia przeprowadzona została w warunkach *in vitro*, na ustalonych ludzkich liniach komórkowych mięsaka prąkowano-komórkowego Rh30 i RD. Jednak uzyskane wyniki wymagają dalszego potwierdzenia na poziomie całego organizmu. Stąd też konieczność zastosowania odpowiedniego modelu zwierzęcego. Na podstawie przeszukiwania istniejącej literatury, stwierdziłem, że niniejszy projekt badawczy najlepiej będzie wykonać na myszach SCID-Beige. Myszy SCID-Beige

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

są koizogeniczną linią szczepu C.B-17 (CB17/Icr-Prkdc^{SCID}/IcrCrI), wykorzystywaną przede wszystkim w badaniach związanych z nowotworzeniem. Charakteryzują się wrodzonym defektem odporności. Ich wykorzystanie w moim projekcie umożliwi pomyślne przeszczepienie ludzkich komórek mięsaka prążkowanokomórkowego bez konieczności narażania zwierząt innego szczepu np.: BALB/c na dodatkowe naświetlanie promieniami gamma w dawce 350cGy. Aby dodatkowo zminimalizować współczynnik zmienności do doświadczenia zostaną wykorzystane zwierzęta w tym samym wieku, tej samej płci i zbliżonej masie ciała.

Reduction (zmniejszenie/ograniczenie):

Do określenia liczebności próby wykorzystałem narzędzie multimedialne ze strony: www.biomath.info. pozwalające wyliczyć niezbędną, najmniejszą liczbą osobników przy największym prawdopodobieństwie uzyskania wiarygodnych wyników. Użycie mniejszej liczby zwierząt mogłyby spowodować niepowodzenie całego doświadczenia i konieczność jego powtórzenia.

Refinement (udoskonalenie):

Przez cały okres trwania eksperymentu prowadzony będzie zeszyt, w którym zapisywane będą obserwacje wyglądu i zachowań zwierząt. W przypadku stwierdzenia nietypowego zachowania, podejrzenia odczuwania bólu, cierpienia lub dystresu po konsultacji z lekarzem weterynarii niezwłocznie zastosowane zostaną odpowiednie środki farmakologiczne: Butorfanol (1-2mg/kg m.c). Jeżeli rozrost nowotworowy uniemożliwi funkcjonowanie czynności fizjologicznych takich jak oddawanie kału i moczu bądź poruszanie się zwierzęcia o własnych siłach, doświadczenie zostanie przerwane, a zwierzęta zostaną uśmiercone sposobem humanitarny. Podczas całego eksperymentu zwierzętom zapewniony będzie najlepszy standard życia. Zwierzęta będą miały zapewniony stały dostęp do urozmaiceń wzbogacających środowisko bytowe t.j drewniane klocki do ścierania zębów i tunele z celulozy. Opiekę nad nimi będą sprawować wyłącznie osoby do tego celu specjalnie przeszkolone, posiadające odpowiednie certyfikaty. Zwierzęta przed wykonaniem każdej procedury, zostaną poddane handlingowi. Aby wykluczyć dodatkowy stres u zwierząt liczba personelu zostanie ograniczona do niezbędnego minimum.

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.