

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Badanie bezpieczeństwa oraz aktywności przeciwnowotworowej AD-O51.4 w koadministracji z heparyną w modelu zwierzęcym

2. Czas trwania projektu 04.01.2021 - 30.06.2021

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) TRAIL/Apo2L, heparyna, bezpieczeństwo

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

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.

Planowane badania są kontynuacją rozwoju przedklinicznego potencjalnego leku innowacyjnego - białka fuzyjnego AD-O51.4 stanowiące modyfikację molekuly TRAIL/Apo2L zdolnej do aktywacji apoptozy w komórkach nowotworowych. Modyfikacje obecne w badanej cząsteczce warunkują jej oddziaływanie z receptorami dla VEGF, co przyczynia się do anty-angiogennej aktywności cząsteczki. W toku badań wykazano, że domena wiążąca VEGFR posiada także niespecyficzną właściwość wiązania cząsteczek heparyny, co wykazano w eksperymentach wiązania za pomocą metody SPR oraz eksperymentach cytotoksyczności in vitro. Traktowanie nowotworowych linii komórkowych białkiem AD-O51.4 w obecności enoksaparyny miało wpływ na aktywność przeciwnowotworową AD-O51.4 in vitro, w związku z czym istnieje konieczność przeprowadzenia badań nad interakcjami tych cząsteczek in vivo.

Dodatkowo, większość pacjentów onkologicznych w zaawansowanym stadium choroby nowotworowej (czyli pacjentów, którzy będą rekrutowani do I fazy badań klinicznych) przyjmuje analogi heparyny w ramach profilaktyki przeciwzakrzepowej zgodnie z instrukcjami znajdującymi się w „Wytycznych profilaktyki i leczenia żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej” z czerwca 2005 r. oraz Rekomendacjach Polskiego Towarzystwa Chirurgii Onkologicznej z 2007 r.

W związku z powyższym niezbędne jest zbadanie wpływu równoczesnego podawania enoksaparyny i badanej cząsteczki na bezpieczeństwo i efektywność terapii. Bezpieczeństwo (badanie MTD) oraz efektywność terapii samej cząsteczki AD-O51.4 zostały dobrze poznane, a opis tych badań został zawarty we wnioskach do II LKE przy SGGW, które skutkowały powstaniem uchwał odpowiednio WAW2/123/2018 dla MTD oraz WAW2/91/2017 dla efektywności.

Planowane badania obejmą trzy etapy:

I – wyznaczenie dawki enoksaparyny do dalszych badań

II – badanie bezpieczeństwa AD-O51.4 z premedykacją enoksaparyną

III – badanie efektywności AD-O51.4 przy równoczesnym podaniu enoksaparyny w mysim modelu choroby nowotworowej (ludzki rak jelita grubego Colo205)

W etapie 1 i 2 myszy szczepu CD-1 otrzymają różne dawki heparyny (podskórnie, przez 4 dni, 1x dziennie) oraz dożylnie badane białko w wybranych dawkach (4 dni, podanie jednokrotne). Następnie po upływie 6h zostanie pobrana krew do analiz morfologicznych, biochemicznych i układu krzepnięcia.

W etapie 3 myszy CD-1 Foxn1nu z podskórnym rakiem jelita grubego Colo205 otrzymywać będą heparynę (jednokrotne podskórne podanie) i badane białko (podanie dożylne, jednokrotne) w dawkach wybranych w etapie 1 i 2. Obserwacja będzie prowadzona przez 7 dni wraz z pomiarem masy ciała i wielkości rosnących guzów. Na zakończenie badania (po max. 2-3 tyg. od wszczepienia komórek nowotworowych) myszy zostaną poddane eutanazji i zostaną pobrane tkanki i guzy do dalszych analiz.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W badaniach zostanie użytych 72 samce i 54 samice myszy szczepu CD-1 w wieku 8-12 tygodni oraz 80 samiec myszy szczepu CD-1 Foxn1nu w wieku 8-12 tygodni.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Badanie w modelu zwierzęcym jest konieczne do przeprowadzenia w celu określenia bezpieczeństwa a także aktywności przeciwnowotworowej łącznego stosowania heparyny i badanego białka AD-O51.4 czego żaden test *in vitro* nie jest w stanie zastąpić. Niemniej badania te będą prowadzone w oparciu o zasady 3R.

Prowadzone dotychczas badania *in vitro* i *in vivo* umożliwiły wyselekcjonowanie najaktywniejszej molekuly AD-O51.4 oraz pozwoliły na wyznaczenie dla niej dawki LOAEL i MTD co pozwala na wykorzystanie mniejszej liczby zwierząt w dalszych badaniach (zasada zastąpienia). Dane pozyskane z realizacji przedkładanego projektu pozwolą na opracowanie nowych procedur terapeutycznych, których nadrzędnym celem jest wydłużenie czasu przeżycia pacjentów z rakiem jelita grubego oraz bezpieczeństwo stosowania badanego białka w koadministracji z heparyną (stosowaną u pacjentów onkologicznych).

Wyniki naszych dotychczasowych doświadczeń *in vivo* oraz stosowane metody statystyczne pozwalają stwierdzić, że przewidziana minimalna liczebność zwierząt przypadających na każdą grupę jest wystarczająca do wiarygodnego oszacowania skuteczności stosowanej terapii (zasada ograniczenia i udoskonalenia). Bazując na danych uzyskanych z przeprowadzonych badań, można będzie dokonać wiarygodnej oceny bezpieczeństwa i skuteczności badanej terapii.

W planowanych doświadczeniach typu MTD i ksenograft, oprócz zaszczepienia komórek nowotworowych i podawania preparatów, monitorowany będzie wyłącznie wzrost guzów, masa ciała i kondycja zwierząt, bez konieczności przyżyciowego pobierania próbek. Na zakończenie eksperymentu, przewidziano małoinwazyjne pobranie materiału do dalszych badań (zasada udoskonalenia).

Myszy wykorzystywane do zaplanowanych doświadczeń utrzymywane będą w warunkach SPF zapewniających dobrostan zwierząt (stały dostęp do wody i pokarmu, urozmaicone warunki bytowe chroniące przed nudą). Badania będą prowadzone przez doświadczonych osoby, co pozwoli na przeprowadzenie badań z ograniczonym do minimum stresem czy bólem (zasada udoskonalenia). Zaplanowane procedury zaprojektowano tak, by ograniczyć ból, cierpienie i dystres wykorzystywanych zwierząt. W przypadku zaobserwowania znacznego pogorszenia stanu zdrowia

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

zwierząt (np. spadek masy powyżej 15%) zostanie zastosowane wczesne, humanitarne zakończenie procedury. Także myszy z wyraźnym guzem nowotworowym (powyżej 2000 mm³) poddane zostaną eutanazji.

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.