

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu

„Badanie skuteczności terapii łączonej inhibitorami małocząsteczkowymi interakcji PD-1/PD-L1 oraz przeciwciałami anty-CTLA-4 u myszy humanizowanych z nowotworami jelita grubego”

2. Czas trwania projektu 2 lata

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) nowotwory, terapia łączona, immunologiczne punkty kontrolne, inhibitory małocząsteczkowe

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

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.

Nabywana odporność na leczenie chorób nowotworowych skutkuje zwykle niską skutecznością monoterapii. Coraz bardziej popularne stają się terapie łączone z zastosowaniem co najmniej dwóch leków, których współdziałanie powinno zwiększać sukces w walce z chorobą. Dużą rolę w rozwoju nowotworów pełnią immunologiczne punkty kontroli, będące regulatorami aktywacji układu immunologicznego. Ich zablokowanie ma na celu reaktywację stłumionego przez nowotwór układu odpornościowego pacjenta, aby był on zdolny do skutecznej eliminacji komórek nowotworowych.

Testowanie immunoterapeutyków wymaga sprawdzenia działania miejscowego w obrębie nowotworu, jak i oceny aktywacji układu immunologicznego. Opracowanie modelu zwierzęcego odtwarzającego ludzki układ odpornościowy (modele humanizowane) pozwoli na weryfikację potencjału terapeutycznego kombinacji inhibitorów przeciwko dwóm różnym immunologicznym punktom kontroli.

Do przewidywanych szkód należeć będzie umiarkowany ból wywołany iniekcją dootrzewnową podczas znieczulania myszy celem ich unieruchomienia przed napromieniowaniem oraz możliwe złe samopoczucie po naświetlaniu. Wystąpi umiarkowany ból podczas wkłucia dożylnego przy podawaniu ludzkich komórek hematopoezy oraz podczas wkłucia podskórnego przy wszczepianiu komórek nowotworowych. Podskórne guzy nowotworowe nie będą wywierać wpływu na dobrostan, ich pomiary będą bezbolesne. Kilkukrotnie wystąpi umiarkowany ból i stres spowodowany pobieraniem niewielkich ilości krwi na potrzeby analiz. Procedura obejmująca podawanie leków będzie dotkliwa, ponieważ wielokrotne wkłucia dootrzewnowe podczas codziennego podawania leków spowodują długotrwały umiarkowany ból. Mało prawdopodobne ze względu na jej specyficzność jest gorsze samopoczucie podczas terapii. Ostatnim etapem będzie humanitarne uśmiercenie, które nastąpi po upływie określonego czasu lub, gdy zaobserwowane zostaną objawy znacznego pogorszenia dobrostanu, zatem nie dopuści się do cierpienia zwierząt.

Eksperyment zakłada przetestowanie obiecującej, nowatorskiej formy terapii i przyczyni się do rozwoju nowoczesnych metod leczenia nowotworów.

Cel badań: Badania translacyjne lub stosowane, Rodzaj badań: [PT21] Nowotwór u człowieka. Klasyfikacja wyniku z faktu, iż badanie będzie dotyczyło leczenia przeciwnowotworowego ludzi.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

326 myszy domowych (*Mus musculus*)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Pomimo faktu, iż w naukach z dziedziny medycyny i farmakologii dokonuje się stały postęp, wciąż niemożliwym pozostaje pełne zastąpienie doświadczeń na zwierzętach innymi rodzajami eksperymentów, np. *in vitro*, *in silico* (w tym z wykorzystaniem sztucznej inteligencji). Spowodowane jest to ciągłym brakiem możliwości pełnego odzwierciedlenia wszystkich procesów i przemian, jakim badane substancje podlegają w żywym organizmie. Wobec tego na pewnym etapie rozwoju wszelkich nowych, obiecujących preparatów – potencjalnych leków, konieczne jest prowadzenie doświadczeń z użyciem zwierząt laboratoryjnych. Przedstawiony w niniejszym wniosku eksperyment *in vivo* zostanie wykonany z użyciem myszy.

Myszy będą utrzymywane zgodnie z warunkami opisanymi w rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 14 grudnia 2016 r. w sprawie minimalnych wymagań, jakie powinien spełniać ośrodek (Dziennik Ustaw, pozycja 2139). Zwierzęta będą znajdowały się w warunkach zgodnych z obowiązującymi przepisami oraz podczas trwania eksperymentu wszystkie osobniki będą pod stałą opieką lekarsko-weterynaryjną.

W trakcie przygotowań niniejszego projektu badawczego, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem

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

badawczym w bazach danych PubMed oraz Web of Science (JCR). Wykorzystano następujące słowa kluczowe: humanized mouse models in tumor immunology/ PD-1/PD-L1 immune checkpoint inhibition/ CTLA-4 monoclonal antibodies/ combination therapy/ RKO tumor mouse model.

Na podstawie przeprowadzonej analizy literatury możemy stwierdzić, co następuje:

- 1) Zaplanowane modele przeszczepu – komórki RKO zostały już wcześniej użyte w literaturze do wywołania nowotworów odpowiednio u myszy humanizowanych i są odpowiednim podejściem do zbadania tego typu terapii u myszy.
- 2) W przypadku użytych inhibitorów zostały wykonane monoterapie myszy tymi związkami lub związkami bardzo podobnymi strukturalnie do tych, których zamierzamy użyć, a wyniki tych eksperymentów zostały opublikowane w literaturze naukowej. Świadczy to o tym, że nie są te związki toksyczne dla zwierząt. Nie ma więc konieczności przeprowadzenia wstępnych testów toksykologicznych tych związków. Przeciwciała były wcześniej testowane na myszach laboratoryjnych i są dostępne komercyjnie.

Zastąpienie (Replacement): Testowanie na zwierzętach związków będących potencjalnymi lekami jest konieczne w badaniach nad terapią chorób nowotworowych. Informacje, które otrzymujemy w wyniku przeprowadzenia eksperymentów in vitro na hodowlach komórkowych nie są wystarczające, by testowany związek mógł zostać wzięty pod uwagę jako lek dla człowieka i wykorzystany w badaniach klinicznych. Podanie związku myszom pozwala zbadać w układzie żywego organizmu wiele aspektów funkcjonowania potencjalnego terapeutu, jak na przykład: czy nowy lek dociera do komórek docelowych, a jeśli tak - czy jest w nich aktywny oraz czy nie jest toksyczny lub czy w wyniku jego metabolizmu nie powstaje produkt toksyczny dla organizmu. Etap pośredni między hodowlą komórkową in vitro a człowiekiem jest więc niezbędny i zastąpienie go nie jest możliwe.

Ograniczenie (Reduction): Proponowana liczba zwierząt jest najmniejszą przy której jesteśmy w stanie w sposób wiarygodny uzyskać odpowiedź na zadane pytania badawcze i uzyskać istotne statystycznie wyniki. Mysz stanowi najniższy z gatunków zwierząt, który może zostać użyty do sprawdzenia skuteczności proponowanej terapii, a szczep NSG-SGM3 zarówno dobrze przyjmuje ludzkie heteroprzeszczepy, jak i poddaje się procedurze humanizacji..

Udoskonalenie (Refinement): Zastosowane będą humanitarne punkty końcowe w przypadku zauważenia objawów klinicznych choroby lub zauważeniu objawów dystresu. Wszystkie myszy utrzymywane będą w warunkach minimalizujących ryzyko infekcji, czyli w klatkach indywidualnie wentylowanych lub izolatorach. Zapewnione będzie wzbogacenie środowiska bytowania zwierząt poprzez dostarczenie dodatkowych schronień (tekturowe lub plastikowe rurki lub/i domki) oraz dodatkowego materiału na gniazda. Zwierzęta będą obsługiwane przez doświadczonych pracowników, będą przyzwyczajane do kontaktu z eksperymentatorami i wykonywanych procedur. Pozwoli to znacząco zmniejszyć stres myszy w trakcie doświadczenia.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

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

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

~~X~~ NIE