

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Opracowanie małowcząsteczkowej pochodnej 1,2,4-triazyny (MM-129) – badania toksyczności w zwierzęcym modelu doświadczalnym.**

2. Czas trwania projektu **maj 2019-październik 2020**

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) MM-129, roscovitine, 1,2,4-triazine, maximum tolerated dose

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) **A. Badania podstawowe**

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.

Mimo znacznego postępu, jaki dokonał się w ostatnich latach w leczeniu nowotworów, opracowanie skutecznej terapii wciąż stanowi poważne wyzwanie dla współczesnej onkologii. Innowacyjność projektu polega na wykorzystaniu nowo otrzymanego na drodze syntetycznej związku MM-129 o unikalnej strukturze w terapii raka jelita grubego. Pierwsze analizy przeprowadzone w badaniach in vitro znalazły potwierdzenie także w modelu in vivo, gdzie zaobserwowaliśmy, iż związek ten skutecznie hamuje progresję nowotworu prowadząc do istotnej redukcji objętości i masy guza u mysich xenograftów

Przed pierwszym podaniem pacjentom MM-129 musi przejść bezwzględną ocenę objawów klinicznych. Badania bezpieczeństwa farmakologicznego powinny obejmować także określenie zależności dawka-

odpowiedź połączonego z obserwacją niekorzystnych efektów badanego leku na najważniejsze funkcje organizmu (1). Wstępne wyniki badań in vitro oraz in vivo są bardzo obiecujące jednakże bezpieczeństwo i toksyczność MM-129 muszą zostać dokładnie przebadane na zwierzętach przed pierwszym podaniem pacjentom.

Celem powyższego projektu jest ocena profilu bezpieczeństwa nowego potencjalnego leku przeciwnowotworowego MM-129. W związku z tym myszy biorące udział w eksperymencie zostaną poddane obserwacji klinicznej po podaniu MM-129. Badanie to pozwoli ustalić dawkę MM-129, która będzie mogła być bezpiecznie podana w kolejnym badaniu oceniającym toksyczność przewlekłą badanego związku poprzez 14 dniową obserwację zachowania zwierzęcia od momentu podania MM-129. Wszystkie procedury zakończą się uśmierceniem zwierzęcia i sekcją w celu oceny zmian narządowych. Zgodnie z rozporządzeniem MNiSW z dnia 4 listopada 2015 r., powyższe procedury zostaną przeprowadzone w ramach badań podstawowych (PB1 – onkologia niezależnie od badanego układu). Ocena zdolności wywołania efektu toksycznego przez nowe substancje o działaniu przeciwnowotworowym wymagają przeprowadzenie badań w modelu zwierzęcym (myszy) nie istnieje możliwość ich przeprowadzenia poza żywym organizmem, stąd badania zostaną przeprowadzone na myszach.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Najodpowiedniejszym modelem zwierzęcym do badań toksyczności są gryzonie. W naszych badaniach użyte zostaną myszy szczep BALB/ccmdb. Zgodnie z literaturą naukową tego typu badania są powszechnie wykonywane na gryzoniach w tym myszach. Na chwilę obecną nie ma więc potrzeby wykorzystania większych ssaków, a ze względu na charakter ocenianych parametrów niemożliwe jest również wykorzystanie bezkręgowców, stąd gryzonie wydają się być trafnym wyborem. Złożona odpowiedź fizjologiczna jak zmiana aktywności zwierzęcia, apatia, przebarwienia skórne, zapaść a nawet śmierć zależy od wielu czynników, włącznie z kontrolą uwalnianych przez różne narządy wewnętrzne substancji (tzw. kontrola humoralna lub para-, auto- i endokrynną), jak i kontrolą nerwową, w tym odruchową i ośrodkową. Niemożliwe jest zbadanie tych efektów zarówno w hodowlach komórek, jak i z wykorzystaniem izolowanych narządów wewnętrznych. Badań nie można więc przeprowadzić przy użyciu metod mniej inwazyjnych lub z wykorzystaniem innego niż gryzonie materiału.

Wielkość grup eksperymentalnych powinna być wystarczająca, aby umożliwić interpretację uzyskanych wyników.

Ocena bezpieczeństwa MM-129 toksyczność ostra (procedura 2)	
Grupa badawcza	Ilość zwierząt
Kontrola (nośnik-DMSO)	6
MM-129 w dawce 10, 100 mg/kg p.o	2 x 6 =12
	Ogółem: 18
Ocena bezpieczeństwa MM-129 toksyczność przewlekła (procedura 3)	
Grupa badawcza	Ilość zwierząt
Kontrola (nośnik-DMSO)	10
MM-129 w dobrze tolerowanej dawce wyłonionej w procedurze 2	10
	Ogółem: 20

Zaproponowana przez nas liczba zwierząt jest odpowiednia do wykazania lub wykluczenia obecności działań niepożądanych. Na podstawie dotychczasowego doświadczenia i wstępnej prognozy statystycznej w przypadku 6 (Procedura 1) oraz 10 zwierząt w grupie (Procedura 2) możliwe będzie wykazanie różnic na poziomie istotnym klinicznie i statystycznie. Wielkość próby została oszacowana na podstawie czynników warunkujących wiarygodność wyników (kryterium istotności statystycznej, moc testu statystycznego, wielkość efektu), zwracając uwagę na aspekty etyczne oraz techniczno-organizacyjne. Dobrana w taki sposób wielkość grup badanych pozwoli na uzyskanie istotnych statystycznie wyników, ograniczając do minimum liczbę zwierząt.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: EBSCO; PUBMED; Google Scholar; AGRICOLA; Science Direct; Web of Science (JCR).

Wykorzystano następujące słowa klucze: roscovitine, 1,2,4-triazine, maximum tolerated dose

A. Celem badań toksykologicznych z udziałem zwierząt jest określenie potencjalnych działań

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

niepożądanych u ludzi, dlatego nieuniknione jest narażenie ich na negatywne skutki działania leku. Zgodnie z zasadą zastąpienia, ograniczenia oraz udoskonalenia (3R) konieczne jest zminimalizowanie liczby wykorzystywanych w badaniach zwierząt oraz niekorzystnych efektów badanych związków. Najbardziej rozsądnym postępowaniem poprzedzającym pełny profil badań toksyczności i bezpieczeństwa na modelu zwierzęcym jest określenie maksymalnej dawki badanego związku, która nie będzie wywierać szkodliwego działania narządowego. Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych z dziedziny medycyny i nauk pokrewnych. Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że brak jest danych dotyczących oceny bezpieczeństwa farmakologicznego MM-129. Na podstawie eksperymentu z ograniczoną liczbą zwierząt ustalimy dawkę MM-129 po zastosowaniu której obserwowane będą niekorzystne objawy. Dzięki temu określimy poziom dawkowania, który będzie stosowany w kolejnych badaniach toksykologicznych i badaniach bezpieczeństwa farmakologicznego. W trakcie eksperymentu zwierzęta będą szczególnie uważnie obserwowane celem wykrycia tzw. krytycznych punktów kontrolnych, czyli objawów świadczących o cierpieniu zwierząt i konieczności wcześniejszego zakończenia danej procedury (<http://www.lasa.co.uk/pdf/lasa-nc3rsdoselevelselection.pdf>). Takie postępowanie zmniejszy niepotrzebne cierpienie zwierząt oraz ograniczy ich liczbę w kolejnych badaniach regulacyjnych.

B. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że planowane przez nas badania stanowią nowe podejście i do chwili obecnej nie przeprowadzono, badań bezpieczeństwa MM-129. Zgodnie z zasadą redukcji, aby chronić zwierzęta laboratoryjne podjęliśmy środki mające na celu ograniczenie liczby zwierząt w planowanych eksperymentach. Liczba ta została ograniczona do minimum, bez narażenia na porażkę głównego celu projektu. Zastosowano liczne środki mające na celu ograniczenie liczebności zwierząt, takie jak liczne szkolenia oraz wieloletnie doświadczenie osób wykonujących doświadczenia.

C. Brak jest danych oceniających toksyczność MM-129. A zatem przeprowadzenie tego typu badań może mieć niezwykle istotne implikacje kliniczne.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na określenie bezpieczeństwa stosowania MM-129.

A/ Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku nowych leków

przeciwnowotworowych stosowanych w terapii raka jelita grubego.

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na stosowaniu MM-129 może przyczynić się do skuteczniejszej terapii raka jelita grubego.

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.