

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Przeciwnowotworowa terapia komórkami NK myszy z ludzkimi guzami szpiczaka mnogiego.

2. Czas trwania projektu: 1 rok

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): Terapia przeciwnowotworowa, komórki NK, szpiczak.

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.

Celem badania jest sprawdzenie skuteczności przeciwnowotworowej modyfikowanych genetycznie ludzkich komórek NK pochodzących z krwi pępowinowej na mysim modelu szpiczaka mnogiego.

Badanie zostanie przeprowadzone na myszach szczepu NOD.Cg-Prkdc^{scid}Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ. Charakterystyczną cechą myszy tego szczepu jest upośledzony układ immunologiczny. Nie posiadają one limfocytów B oraz T a komórki makrofagów, NK oraz dendrytyczne są uszkodzone. Takie upośledzenie układu immunologicznego pozwala na prowadzenie badań z wykorzystaniem ludzkich komórek prawidłowych oraz nowotworowych.

W wyniku podskórnego (po prawej stronie na grzbiecie myszy) wprowadzenia komórek nowotworowych ludzkiego szpiczaka wielopostaciowego (RPMI 8226) powstaną guzy nowotworowe,

które staną się celem dla ludzkich modyfikowanych komórek NK izolowanych z krwi pępowinowej. Komórki NK, zwane również naturalnymi zabójcami, to komórki układu immunologicznego odpowiedzialne między innymi za niszczenie komórek nowotworowych.

Komórki NK wykorzystane w badaniu będą zmodyfikowane genetycznie tzn. do ich genomu zostanie wprowadzony fragment DNA kodujący receptor pozwalające na specyficzne rozpoznawanie komórek ludzkiego szpiczaka wielopostaciowego.

Spodziewamy się, że wprowadzone komórki NK zahamują wzrost guzów nowotworowych lub doprowadzą do ich całkowitego zniszczenia.

Doświadczenie zostało zaplanowane w taki sposób, aby zwierzęta biorące w nim udział nie odczuwały stresu oraz bólu. W trakcie badania zwierzęta będą narażone na dwukrotne ukłucie igłą (wprowadzenie komórek) oraz kilkukrotne uśpienie z wykorzystaniem izofluranu celem przeprowadzenia pomiaru wielkość guzów.

Po zakończeniu badania myszy zostaną uśmiercone a ich narządy wewnętrzne oraz guz zostaną pobrane do dalszych badań histopatologicznych.

Uzyskane wyniki przyczynią się do opracowania nowych przeciwnowotworowych terapii prowadzonych z wykorzystaniem modyfikowanych genetycznie komórek układu immunologicznego oraz będą stanowiły podstawę do zaprojektowania przyszłych badań klinicznych.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniu wykorzystanych zostanie 30 myszy szczepu NOD.Cg-Prkdc^{scid}Il2rg^{tm1Wjl}/SzJ.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych: PUBMED oraz Google Scholar. Na podstawie przeszukania istniejącej

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

literatury, stwierdzono że brak jest dostępnych danych dotyczących terapii komórkowej ludzkiego szpiczaka wielopostaciowego z wykorzystaniem modyfikowanych komórek NK izolowanych z krwi pępowinowej. Uzyskane z proponowanego projektu wyniki mogą stanowić podstawę do opracowania nowych, bardziej skutecznych metod leczenia krytycznego niedokrwienia kończyn jak również nowych strategii przeciwnowotworowych.

Przygotowując doświadczenie uwzględniono zasadę zastąpienia, ograniczenia i udoskonalenia (3R):

1) Zaproponowane przez nas badania, ze względu na ich złożoność oraz cele jakie chcemy osiągnąć, nie można wykonać na hodowlach tkankowych *in vitro*. Nie istnieją również żadne inne metody alternatywne. Jedynie na modelu zwierzęcym możemy przeprowadzić przeciwnowotworową terapię komórkami NK guzów ludzkiego szpiczaka wielopostaciowego.

2) Doświadczenia zaplanowane w projekcie zostały w taki sposób zaprojektowane aby ograniczyć do minimum liczbę zwierząt, przy jednoczesnym zachowaniu istotności statystycznej uzyskanych wyników. Przewidziane procedury będą prowadzone w taki sposób aby po ich zakończeniu uzyskać maksymalną liczbę wyników. Specjalnie do przedłożonego projektu zostały opracowane nowe techniki analizy immunohistochemicznej pozwalające na oznaczenie kilku antygenów jednocześnie. Pobrany materiał tkankowy, od uśmierconych zwierząt po zakończeniu doświadczenia, zostanie w odpowiednich warunkach zamrożony a następnie przechowywany w temp. -80°C . Dzięki temu, w razie konieczności wykonania dodatkowych analiz zostanie ponownie użyty, bez konieczności przeprowadzenia doświadczenia z użyciem dodatkowych zwierząt.

3) Doświadczenie, które planujemy przeprowadzić, zostało przez nas zaplanowane w taki sposób, aby do minimum ograniczyć ból i stres mysz. Myszy będą trzymane w indywidualnie wentylowanych klatkach, w odpowiedniej dla nich temperaturze i wilgotności. Ich stan będzie monitorowany przez wykwalifikowany personel oraz otoczone będą opieką weterynaryjną (siedem dni w tygodniu). Myszy będą miały całodobowy dostęp do świeżej wody i specjalistycznej paszy. W celu wzbogacenia środowiska w klatkach oprócz podstawowej, niepylającej, chłonnej osikowej ściółki będzie również ściółka przeznaczona do budowy gniazd. W pomieszczeniu hodowlanym będzie zachowany 12 godzinny cykl dobowy światła (dzień/noc). W razie stwierdzenia nieodwracalnych zmian chorobowych powodujących u myszy np. zaburzenia w poruszaniu się, przyjmowaniu jedzenia i picia doświadczenie zostanie przerwane a zwierzę zostanie humanitarnie uśmiercone.

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.