

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu *Badania nad opracowaniem modelu doświadczalnego raka nerki w oparciu o wyniki badań w modelu in vitro*

2. Czas trwania projektu: *12 miesięcy*

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): *rak nerki, mysz NSG, terapia celowana, xenograft*

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): *B. Badania translacyjne lub stosowane*

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 doświadczenia jest opracowanie modelu raka nerki do badań nad nowymi terapiami celowanymi. W Polsce rak nerki dotyka rokrocznie ponad 5000 osób, powodując śmierć prawie 2800 chorych. Wysoka śmiertelność chorych wynika z braku skutecznych metod leczenia. Opracowanie nowych terapii jest zatem niezbędne.

Aby możliwe było rozpoczęcie badań nad nową terapią antynowotworową u ludzi, konieczne jest udowodnienie, że terapia daje pozytywny efekt in vivo. Badania in vitro nie są w stanie odtworzyć dokładnie sytuacji z jaką mamy do czynienia w przypadku guza nowotworowego rosnącego w żywym organizmie. Dlatego zaplanowaliśmy badania in vivo, których pierwszym etapem jest opracowanie

modelu doświadczalnego raka nerki: jest to celem niniejszego wniosku. Dopiero dysponując tym modelem będziemy mogli rozpocząć właściwe badania, w których sprawdzimy, czy efekty antynowotworowe terapii celowanej, badanej do tej pory jedynie in vitro, hamują też wzrost guza nowotworowego rosnącego w żywym organizmie. Dokładne zaplanowanie docelowych doświadczeń nad terapią celowaną będzie możliwe dopiero po uzyskaniu wyników badania pilotażowego (które jest celem niniejszego wniosku): dopiero wtedy będziemy wiedzieli jaką liczbę zwierząt powinniśmy uwzględnić w badaniach nad terapią i jaką liczbę komórek nowotworowych powinniśmy im podać, by uzyskać wzrost guza, który następnie będzie można leczyć za pomocą testowanej terapii.

Przewidywane szkody, jakie nasze doświadczenie wywołać u zwierząt są niestety nieuniknione: chcemy zaindukować u nich chorobę nowotworową. Będziemy jednak dokładać wszelkich starań, by zminimalizować cierpienia zwierząt: i) będziemy stosować odpowiednie środki przeciwbólowe; ii) stan zwierząt będzie na bieżąco monitorowany przez wykwalifikowany personel z kilkudziesięcioletnim doświadczeniem w badaniach na zwierzętach; iii) zwierzęta zostaną bezboleśnie uśmiercone zanim choroba rozwinie się na tyle, by powodować ból związany z przerzutami.

Przewidujemy jednak, że zaplanowany przez nas eksperyment przyniesie duże korzyści dla nauki i medycyny, a w przyszłości dla wszystkich chorych na raka nerki i ich rodzin: dzięki opracowanemu przez nas modelowi raka nerki będziemy mogli (w kolejnych eksperymentach, na które będziemy składać odrębny wniosek w późniejszym terminie) przetestować terapię antynowotworową. Bezpośrednio korzyść z badania pilotażowego, które opisujemy w niniejszym wniosku odniosą również zwierzęta laboratoryjne: dzięki niemu będziemy mogli znacznie zredukować liczbę zwierząt, które musielibyśmy wykorzystać w późniejszych eksperymentach, których celem będzie testowanie skuteczności terapii antynowotworowej.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Gatunek: mysz domowa

Liczba: 180 zwierząt

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Opracowując projekt sprawdziliśmy piśmiennictwo dotyczące planowanego eksperymentu w bazach: Pubmed, Google Scholar. Jako słowa kluczowe wykorzystaliśmy: renal cancer, xenografts, 786-O, Caki-1, KII265T, murine, NSG Mouse. Na podstawie przeczytanego piśmiennictwa stwierdzamy, że dane dotyczące dawek podawanych komórek są sprzeczne i trudno na ich podstawie stwierdzić, jaką liczbę komórek raka nerki należy podać w iniekcji podskórnej i tym bardziej pod torebkę nerki, by uzyskać wzrost guzów nadających się do analizy skutków terapii w dalszych badaniach.

Zgodnie z zasadą Reducement (zredukować) ograniczyliśmy liczbę badanych osobników myszy szczepu, w którym można uzyskać wzrost ludzkich komórek, do 5 osobników jednej płci w grupie. W doświadczeniu oprócz tradycyjnej metody pomiaru rozmiarów guza suwmiarką, będziemy posługiwać się też nowoczesnymi metodami pomiarowymi (USG), wykonywanymi przez eksperymentatora z 22-letnim doświadczeniem, co w przyszłości umożliwi nam dokładniejszy pomiar wpływu terapii i tym samym pomoże zmniejszyć liczbę zwierząt. Ograniczyliśmy liczbę linii komórkowych raka nerki (a tym samym planowanych zwierząt) do 3. Liczba dostępnych linii wywodzących się z raka nerki jest bardzo duża i z punktu widzenia uzyskania reprezentatywności guzów raka nerki występujących u człowieka najlepszym rozwiązaniem byłoby zaplanowanie doświadczenia z wykorzystaniem kilkudziesięciu różnych linii. Wymagałoby to jednak wykorzystania tysięcy zwierząt. Liczba 3 jest w nauce uważana za najmniejszą dopuszczalną liczbę powtórzeń dającą szansę na uzyskanie wiarygodnych wyników (27).

Zgodnie z zasadą Replacement (ulepszyć, zastąpić):wykonaliśmy szereg badań *in vitro*, *ex vivo* oraz *in silico*. Od lat zajmujemy się badaniem molekularnego podłoża raka nerki. Udało się nam zidentyfikować geny, które mogą stać się celami nowych terapii. Potwierdziliśmy w badaniach *in vitro* i *ex vivo*, że zastosowanie cząsteczek zmieniających działanie tych genów hamuje żywotność, podziały, migrację i inwazyjność komórek nowotworowych. Eksperymenty te były wielokrotnie powtarzane i zawsze kończyły się podobnym, antynowotworowym efektem. Wyniki naszych badań opublikowaliśmy w recenzowanych czasopismach naukowych o światowej renomie, co oznacza, że zostały one uznane przez międzynarodowe środowisko naukowców.

Posiłkując się publicznie dostępnymi bazami danych opracowaliśmy projekt nowych terapii raka nerki, w których wykazaliśmy, że możliwe jest zahamowanie procesu nowotworzenia w badanych przez nas liniach nowotworowych. Wyniki naszych badań zostały opublikowane w światowej klasy czasopismach naukowych.

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

Kolejnym etapem będzie sprawdzenie tych terapii w modelu in vivo. Jednak nie będzie to możliwe dopóki nie ustalimy dobrze modelu badawczego. Bez wyników badań w modelu zwierzęcym nie będzie możliwe przystąpienie do dalszych badań, zmierzających do weryfikacji skuteczności terapii u ludzi. Opracowanie modelu pozwoli również zredukować liczbę zwierząt wykorzystaną w planowanych w dalszym etapie doświadczeniach nad nową terapią

Zgodnie z zasadą Refinement (zmniejszyć cierpienie, zapewnić dobrostan): osoby uczestniczące w doświadczeniu stale podnoszą swoje kompetencje w ramach samokształcenia, uczestnictwa w konferencjach PoLASA i projektach naukowych dotyczących procesu nowotworzenia. Osoby z uprawnieniami do planowania, wykonywania eksperymentów oraz uśmiercania zwierząt stale doskonalą swoje umiejętności w przeprowadzanych za zgodą LKE eksperymentach na zwierzętach.

W celu redukcji stresu i lęku zwierząt zapewnimy myszom:

- ▶ Przebywanie w trakcie doświadczenia po 4 - 5 osobników w klatce ze wzbogaconym środowiskiem
- ▶ wykonywanie poszczególnych procedur zawsze przez osobę wcześniej uczestniczącą w handlingu
- ▶ stałą kontrolę stanu zwierząt (obserwacja zachowania, objawów fizjologicznych)

Ograniczymy czas trwania wszystkich czynności doświadczalnych do niezbędnego minimum

Czas życia zwierząt z przeszczepionym guzem zostanie skrócony względem planowanego jeśli zaobserwujemy u nich cierpienie zbliżające się do niedopuszczalnego poziomu.

- Niniejszy wniosek dotyczy badania pilotażowego, dzięki któremu możliwe będzie ograniczenie liczby zwierząt w planowanym doświadczeniu nad badaniami nad nową terapią. Wyznamy liczbę komórek danej linii, niezbędną do uzyskania wzrostu guza, a jednocześnie nie powodującą zbyt dużego cierpienia i przedwczesnej śmierci zwierzęcia. Wzrost guza jest niezbędny, by można było na nim testować skuteczność opracowywanej terapii. Wszystkie instrumenty weterynaryjne i anestetyki zostały odpowiednio dobrane przez przeszkolony personel (anestezjolog i kardiolog) z wieloletnim doświadczeniem w pracy ze zwierzętami. Nagromadzony wcześniej materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że planowane przez nas badania pozwolą na uzyskanie wyników, które poszerzą wiedzę dotyczącą kinetyki wzrostu guzów badanych linii komórkowych, dadzą podstawy do testowania nowych terapii i w konsekwencji badań klinicznych z użyciem wybranej terapii.

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.