

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

Tytuł projektu: **Nowe strategie wspomagające odpowiedź układu odpornościowego na nowotwory.**

Czas trwania projektu: **3 lata (1/08/2019 – 31/07/2022)**

Słowa kluczowe: **mikrośrodowisko guza, metabolity, nowotwory, układ odpornościowy**

Cel projektu (art. 3 ustawy): **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.

Pomimo zauważalnego postępu w dziedzinie immunoterapii, mikrośrodowisko guza jest poważnym czynnikiem immunosupresyjnym, ograniczającym skuteczność leków immunoterapeutycznych. Komórki nowotworowe wytwarzają bowiem i uwalniają do mikrośrodowiska nadmiar toksycznych odpadów metabolicznych, które hamują funkcję komórek układu odpornościowego, co wykryliśmy w badaniach *in vitro*.

Celem obecnie proponowanych badań *in vivo* jest ocena wpływu 3 związków wzmacniających cytotoksyczne funkcje komórek układu odpornościowego w mysim modelu czerniaka, glejaka, nowotworu sutka i nowotworu jelita. W doświadczeniach przesiewowych *in vitro* wyselekcjonowaliśmy 3 niskocząsteczkowe związki immunomodulujące, zdolne do przywrócenia aktywności komórek układu odpornościowego, uprzednio zahamowanej przy użyciu metabolitów,

wydzielanych przez nowotwory. Bezpieczeństwo stosowania u ludzi dwóch z badanych związków zostało już potwierdzone przez FDA (USA), na mocy paragrafu 503B (lista związków z marca 2019). Dotąd jednak, ich wpływ na aktywność komórek układu odpornościowego nie został opisany. W projekcie oszacujemy czy związki te (stosowane pojedynczo oraz w kombinacji po 2 związki) mogą stanowić skuteczną strategię przeciwnowotworową. Istotna jest ocena potencjału terapeutycznego związków w różnych typach nowotworów, dlatego też do badań *in vivo* wybrano 4 różne mysie linie nowotworowe. Badania w żywym organizmie są w tym przypadku niezbędne, gdyż same badania *in vitro* nie odzwierciedlają warunków mikrośrodowiska nowotworu, które ma ogromny wpływ na efektywność terapii przeciwnowotworowych. W pierwszym etapie projektu zoptymalizowane zostanie dawkowanie 3 związków immunomodulujących (stosowanych pojedynczo oraz w parach) dla myszy immunokompetentnych BALB/c i C57BL/6 (procedura I). Następnie planowane jest sprawdzenie wpływu 3 związków immunomodulujących, w wybranym stężeniu, na wzrost mysiego nowotworu sutka (linia komórkowa 4T1) i jelita (linia komórkowa CT26) w szczepie myszy BALB/c (procedura II) oraz na wzrost mysiego czerniaka (linia komórkowa B16F10) i glejaka (linia komórkowa GL261) w szczepie myszy C57BL/6 (procedura III). Oceniony będzie wzrost nowotworu (pomiar guza) oraz masa i przeżywalność zwierząt. Powyższe mysie linie nowotworowe używane są wszechstronnie w Zakładzie Immunologii WUM, do badań interakcji z układem odpornościowym w mysich modelach, toteż znana jest kinetyka wzrostu tych guzów *in vivo*, a także stopień naciekania guzów przez komórki układu odpornościowego myszy.

## 6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

251 myszy laboratoryjnych BALB/c oraz 251 myszy laboratoryjnych C57BL/6

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

### **Zasada zastąpienia**

Badania w żywym organizmie są w tym przypadku niezbędne, gdyż same badania *in vitro* nie odzwierciedlają mikrośrodowiska nowotworu, które ma ogromny wpływ na efektywność terapii anty-nowotworowych. Ponieważ proponowane eksperymenty bazują na wpływie 3 związków immunomodulujących na wzrost guzów, hamujący wpływ mikrośrodowiska guza oraz obecność układu odpornościowego są w tych eksperymentach kluczowymi elementami. W badaniach

opisanych powyżej musimy więc bazować na zwierzętach posiadających układ odpornościowy - immunokompetentnych myszy szczepów BALB/c i C57BL/6.

#### **Zasada ograniczenia**

Planowane badania uwzględniają ich wykonanie na najniższej możliwej liczbie zwierząt w poszczególnych grupach. Bazując na doświadczeniu oraz dostępnej literaturze do ustalenia wielkości grup zastosowano odpowiednie narzędzia statystyczne (patrz poniżej, podpunkt: „Uzasadnienie wykorzystania wskazanej liczby zwierząt”). Liczebność grup została tak zaplanowana, aby przy jak najmniejszej liczbie zwierząt uzyskać istotne statystycznie, a więc wiarygodne wyniki.

Wykonanie badań z użyciem 3 związków immunomodulujących równolegle (w tym samym doświadczeniu) pozwoli na użycie tej samej grupy kontrolnej myszy. To pozwoli na ograniczenie liczby zwierząt, bez potrzeby używania osobnych grup kontrolnych dla 3 badanych związków, które rozpuszczone będą w tym samym rozpuszczalniku.

Badania toksyczności związków immunomodulujących (procedura nr I) będą wykonane w pierwszej kolejności na myszach BALB/c. Jeśli badane związki okażą się dobrze tolerowalne i nie zaobserwujemy żadnych objawów toksyczności w żadnej ze stosowanych dawek, nie będziemy już przeprowadzać tych badań na myszach C57BL/6, eliminując w ten sposób użycie 51 myszy.

#### **Zasada udoskonalenia**

Wszystkie procedury w przedstawionym projekcie zostały zaplanowane tak, aby ograniczyć do minimum stres oraz dyskomfort zwierząt. Objawy przyżyciowe, monitorowane w czasie eksperymentu (waga, zachowanie, wielkość guza) będą wykorzystane do monitorowania stopnia zaawansowania choroby. W celu zastosowania udoskonaleń dokonaliśmy także analizy dostępnej literatury, aby z dużym prawdopodobieństwem ustalić dawki 3 badanych związków oraz związku wzorcowego – CB839, które nie są toksyczne dla myszy domowej.

#### **8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną**

TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy

TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy

✓ NIE