

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „Badanie wpływu terapii kombinowanej – inhibitorami niskocząsteczkowymi kluczowych białek nowotworowych w połączeniu z przeciwciałami blokującymi immunologiczne punkty kontroli – na rozwój nowotworów płuc i skóry u myszy”

2. Czas trwania projektu: 19 miesięcy

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) nowotwory, immunoterapia, immunologiczne punkty kontroli, inhibitory niskocząsteczkowe

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.

Choroby nowotworowe charakteryzują się tym, że są bardzo złożone – posiadają ogromną różnorodność genetyczną, są w stanie rozprzestrzeniać się poza ognisko pierwotne, a nawet nabywają oporności na pewne terapie. Z tego względu mniej skuteczne stają się monoterapie, czyli leczenie nowotworów za pomocą jednego środka terapeutycznego, a coraz bardziej popularne stają się terapie kombinowane, czyli takie z zastosowaniem co najmniej dwóch leków, których współdziałanie powinno skutkować większym sukcesem w walce z chorobą.

Celem prezentowanego doświadczenia jest sprawdzenie skuteczności kombinowanej terapii nowotworów płuc i czerniaka, wywołanych u żeńskich osobników myszy szczepu C57BL/6/J poprzez iniekcję tumorogennych komórek linii TC-1 i B16F10 (odpowiednio by wywołać nowotwór płuc i czerniaka). Wywołane guzy zostaną poddane leczeniu osobno terapeutykami z poszczególnych grup oraz terapią łączoną obydwoma czynnikami. Jako pierwszy czynnik terapii planujemy wykorzystać:

małocząteczkowe inhibitory białka USP7, małocząsteczkowy inhibitor CDK4/6 i małocząsteczkowe inhibitory KAT6A i KAT6B. Wszystkie wymienione powyżej związki wykazują aktywność w badaniach przeprowadzonych *in vitro*. Jako drugi czynnik terapeutyczny myszom podane zostaną przeciwciała monoklonalne blokujące receptory powierzchniowe będące częścią tzw. immunologicznych punktów kontroli – przeciwciała przeciwko mysim białkom PD-1, PD-L1 i CTLA-4. W wyniku przeprowadzenia doświadczeń wyznaczone zostaną krzywe przeżywalności oraz dokonane zostaną pomiary wielkości i szybkości wzrostu guzów, analiza histologiczna i immunohistochemiczna zmian oraz wykonane zostaną analizy: cytometria przepływowa i morfologia komórek krwi oraz cytometria przepływowa i immunoblotting na komórkach pochodzących ze zmian nowotworowych.

Projekt ten przyczyni się do rozwoju nowoczesnych immunoterapii nowotworów, ponieważ pozwoli na ocenę skuteczności terapii kombinowanych wyżej wymienionymi związkami terapeutycznymi. Przeprowadzenie tych badań umożliwi również zbadanie wpływu jednoczesnego zahamowania dwóch molekularnych mechanizmów rozwoju nowotworów w raku skóry i płuc u myszy. Wyniki te zostaną wykorzystane do oszacowania przydatności tego typu terapii w leczeniu nowotworów u ludzi.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

1016; mysz domowa szczep C57/BL6; płeć: samice

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 badawczym w bazach danych PubMed oraz Web of Science (JCR). Wykorzystano następujące słowa kluczowe: mouse models in tumor immunology/ PD-1/PD-L1 immune checkpoint

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

inhibition/ USP7 inhibitors/ GNE-6776/ FT671/ FT827/ WM-8014/ WM-1119/ Palbociclib/ combination therapy/ TC-1 xenograft model/ B16F10 xenograft model

Na podstawie przeprowadzonej analizy literatury możemy stwierdzić, co następuje:

1) Zaplanowane modele heteroprzeszczepu – komórki B16F10 i TC-1 zostały już wcześniej użyte w literaturze do wywołania nowotworów u myszy szczepu C57BL/6 i są odpowiednim podejściem do zbadania tego typu terapii u myszy.

2) Nie dokonano jeszcze sprawdzenia skuteczności proponowanych przez nas w tym wniosku terapii kombinowanych. Zostały natomiast wykonane monoterapie myszy tego szczepu związkami, których zamierzamy użyć GNE-6776, FT671, FT827, WM-8014, WM-1119, Palbociclib, co dawało w literaturze obiecujące prognozy oraz świadczy o tym, że związki nie są toksyczne dla zwierząt. Nie ma również konieczności przeprowadzenia wstępnych testów toksykologicznych tych związków. Przeciwciała również 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.

Ograniczenie (Reduction): Proponowana liczba zwierząt jest najmniejszą przy której jesteśmy w stanie w sposób wiarygodny uzyskać odpowiedź na zadane pytania badawcze. Mysz stanowi najniższy z gatunków zwierząt, który może zostać użyty do sprawdzenia skuteczności proponowanej terapii.

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
- ☐ NIE

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