

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „**Ocena wpływu inhibitorów kinaz tyrozynowych na przeciwnowotworowe działanie rytuksymabu**”

2. Czas trwania projektu: 2 lata

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): ostra białaczka limfoblastyczna, rytuksymab, dazatynib, asciminib

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 doświadczenia są badania podstawowe w zakresie onkologii, badające wpływ dwóch inhibitorów kinaz tyrozynowych, dazatynibu i asciminibu, na przeciwnowotworowe działanie rytuksymabu. Inhibitory kinaz tyrozynowych są grupą leków celowanych, stosowanych u chorych na przewlekłą białaczkę szpikową i ostrą białaczkę limfoblastyczną B-komórkową, u których stwierdza się obecność chromosomu Philadelphia. W odróżnieniu do chorych na przewlekłą białaczkę szpikową, u chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną B-komórkową inhibitory kinaz tyrozynowych stosowane są w kombinacji z innymi lekami. Rytuksymab jest przeciwciałem monoklonalnym skierowanym przeciwko cząsteczce CD20, która u części pacjentów jest obecna na komórkach białaczki. Od 2018 roku, do protokołu leczenia niektórych chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną B-komórkową dodaje się również rytuksymab. Są

to w szczególności chorzy, u których standardowe metody leczenia nie przynoszą dobrego efektu.

Korzyści jakie może przynieść wykonanie badań zaplanowanych we wniosku:

Jak dotąd, skuteczność rytuksymabu nie była testowana w modelach mysich ostrej białaczki limfoblastycznej B-komórkowej z chromosomem Philadelphia. Nasze badania wstępne przeprowadzone w modelach *in vitro* wykazały, że dazatynib może osłabiać działanie rytuksymabu. Efektu tego nie zaobserwowano dla asciminibu. Zaplanowane we wniosku badania *in vivo* mogą przyczynić się do poprawy skuteczności leczenia chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną B-komórkową. Mogą bowiem wskazać nowe, bardziej skuteczne terapie łączone.

Szkody dla zwierząt:

Mogą wystąpić:

- dyskomfort związany ze wzrostem guza, który może utrudnić poruszanie się zwierząt
- toksyczność po podaniu rytuksymabu
- dyskomfort u zwierząt związany z iniekcją rytuksymabu
- wszystkie zwierzęta na koniec eksperymentu zostaną humanitarnie uśmiercone.

Zaplanowano odpowiednie procedury mające na celu zminimalizowanie dyskomfortu zwierząt, opisane w punkcie 7 –Zasada udoskonalenia.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mysz domowa, 36

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA<sup>1</sup>

**Zasada zastąpienia**

Od niespełna dwóch lat, rytuksymab (terapeutyczne przeciwciało monoklonalne anty-CD20) w kombinacji z dazatynibem podawany jest chorym na ostrą białaczkę limfoblastyczną B komórkową (B-

---

<sup>1</sup> Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

ALL), u których stwierdzono obecność chromosomu Philadelphia oraz antygenu CD20 (według protokołu leczenia dorosłych chorych na B-ALL). Działanie przeciwnowotworowe rytuksymabu polega na aktywacji komórek układu odpornościowego, takich jak makrofagi bądź limfocyty, do niszczenia komórek nowotworowych (Winiarska et al. PMID: 21196171). Dane literaturowe wskazują, że dazatynib, oprócz bezpośredniego działania przeciwnowotworowego, wykazuje silne działanie modulujące aktywność komórek układu odpornościowego (Salih et al. PMID: 20143399, Mustjoki et al. PMID: 19295545). Ostatnio opublikowane badania przeprowadzone w modelach zwierzęcych wykazały, że dazatynib hamuje zdolność zmodyfikowanych limfocytów T (tzw. limfocytów CAR T) do zabijania komórek nowotworowych (Mestermann et al. PMID: 31270272, Weber et al. PMID: 30814055).

Pomimo stosowania terapii skojarzonej dazatynibu i rytuksymabu w klinice, dotychczas nie sprawdzono interakcji tych leków w modelu B-ALL *in vivo*. Przeszukano bazy danych Pubmed, Google scholar, Web of Science, SCOPUS, SciCentral, BASE, używając słów kluczowych: „B-cell”, „leukemia”, „dasatinib”, „rituximab”, nie znaleziono jednak informacji dotyczących interakcji pomiędzy badanymi lekami. Nasze wyniki wstępne wykonane *in vitro* wskazują, że dazatynib może blokować przeciwnowotworowe działanie rytuksymabu, poprzez hamowanie immunofagocytozy oraz cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał. Immunofagocytoza to jeden z głównych mechanizmów niszczenia komórek nowotworowych przez przeciwciało. Polega on na przyłączeniu się przeciwciała do komórki nowotworowej i aktywacji fagocytozy (pochłaniania) komórki nowotworowej przez makrofagi. Cytotoksyczność komórkowa natomiast polega na aktywacji zabijania komórek nowotworowych poprzez komórki NK (ang. Natural killers). W odróżnieniu od dazatynibu, efektów hamujących działanie rytuksymabu nie zaobserwowano dla asciminibu, inhibitora kinaz tyrozynowych o innym mechanizmie działania niż dazatynib, który jest obecnie testowany w badaniach klinicznych (NCT03595917, NCT02081378). Badane kombinacje zostały już przetestowane w warunkach *in vitro*, dlatego kolejnym krokiem, którego nie da się zastąpić żadnym innym modelem eksperymentalnym, jest wykonanie doświadczenia z wykorzystaniem zwierząt laboratoryjnych.

### **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. Liczebność grup została tak zaplanowana, aby przy jak najmniejszej liczbie zwierząt uzyskać istotne statystycznie a więc wiarygodne wyniki. Zostały

również zaplanowane eksperymenty pilotażowe (Procedura 1), które mają na celu wybranie odpowiedniego modelu i zminimalizowanie liczebności zwierząt użytych w kolejnych eksperymentach.

### **Zasada udoskonalenia**

Wszystkie procedury w przedstawionym projekcie zostały zaplanowane tak, aby ograniczyć do minimum stres oraz dyskomfort zwierząt. Aby zmniejszyć niepotrzebny dyskomfort u zwierząt, myszy będą dokładnie monitorowane przez odpowiednio wyszkolony personel. Objawy przyżyciowe, monitorowane codziennie w czasie eksperymentu (masa ciała, zachowanie, ogólny stan) będą wykorzystane do monitorowania stopnia zaawansowania choroby. Dawki rytuksymabu zostały dobrane na podstawie literatury i nie powinny być toksyczne dla zwierząt. Jeśli którakolwiek z myszy straci 20% lub więcej początkowej masy, bądź zostanie zaobserwowane pogorszenie ogólnego dobrostanu, mysz zostanie uśmiercona (zgodnie z kryteriami podanymi w punkcie 10). W czasie eksperymentu, 2-3 razy w tygodniu monitorowana będzie wielkość guza. Zwierzęta, których guz osiągnie 15 mm w dowolnym czasie, zostaną uśmiercone poprzez dyslokację rdzenia, poprzedzoną podaniem znieczulenia (ketamina, ksylazyna).

Utrzymanie zwierząt będzie prowadzone zgodnie z wytycznymi Rozporządzenia Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 14 grudnia 2016r, w stałych grupach zwierząt, w klatkach dotowanych wielkością do grupy. Zastosowane zostaną wzbogacenia w postaci domków oraz materiałów gniazdowych. Wszystkie czynności, z których składa się procedura, zostaną przeprowadzone w wyznaczonym do tego celu pomieszczeniu zabiegowym. Pomieszczenie znajduje się w odległości około 4 metrów od pomieszczenia, w którym utrzymywane są zwierzęta. Zwierzęta przenoszone są w klatkach-izolatorach tak, aby zapewnić im całkowite bezpieczeństwo. W celu ograniczenia stresu oraz cierpienia zwierząt, podawanie komórek nowotworowych wykonane będzie w znieczuleniu.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną<sup>2</sup>

☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy

☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy

☒ NIE

---

<sup>2</sup> Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.