

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „Ocena toksyczności związku IL13-DT *in vivo*”

2. Czas trwania projektu: 5 lat

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) glejak wielopostaciowy, lek biologiczny, IL13-DT, badanie toksyczności, podanie *in vivo*

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.

Komórki nowotworowe glejaka wielopostaciowego (ang. Glioblastoma Multiforme, GBM), które są wysoce odporne na wszystkie znane terapie, posiadają na swojej powierzchni receptory specyficzne dla nowotworu, takie jak receptory interleukiny 13 (ang. interleukin-13 receptor subunit alpha-2, IL-13RA2). Receptory te nie występują w zdrowych komórkach. W ramach rozwoju nowego leku planowane jest zastosowanie terapii ukierunkowanej na receptory IL-13RA2 przez rekombinowane białko IL-13, skoniugowane z toksyną błoniczą wytwarzaną przez bakterię maczugowca błonicy (anf. Diphtheria toxin, DT). Rekombinowane białko IL-13 uzbrojone w silną toksynę bakteryjną preferencyjnie wiąże się z receptorami specyficznymi dla nowotworu GBM umożliwiając toksynie bakteryjnej wejście do wnętrza komórki glejaka co zostało pokazane w badaniach *in vitro*. Wysoko specyficzne celowanie w komórki GBM umożliwia ich selektywną eliminację dzięki cytotoksycznemu działaniu toksyny bakteryjnej. Związek nie wywiera wpływu na zdrowe komórki. Planowane jest podawanie leku do tkanki mózgowej co może być korzystniejszy niż standardowe podawanie dożylnie, gdyż może zmniejszyć potencjalne skutki uboczne związane ze standardową chemioterapią. Rozwój

związku IL13-DT pozwoli pacjentom z GBM na dostęp do innowacyjnych terapii celowanych molekularnie jako alternatywy dla konwencjonalnego leczenia.

Celem doświadczenia jest podanie przyszłego produktu leczniczego *in vivo* do organizmu ssaka, które pozwoli określić bezpieczne dawki niezbędne do dalszego rozwoju produktu. Zostanie przeprowadzona ocena toksyczności ogólnej, bezpieczeństwa farmakologicznego oraz tolerancji miejscowej związku IL13-DT.

Badany związek IL13-DT będzie w założeniu stosowany lokalnie i zakłada się, że będzie wywierać wpływ w miejscu zastosowania (glejaku). Ewentualne działanie ogólnosystemowe będzie uznane za niepożądany skutek działania leku, co zostanie ocenione poprzez podanie wybranych dawek zarówno dożylnie, jak i domózgowo.

6.LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Gatunek/Szczep: mysz C57Bl/6, 864 osobników

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: PUBMED; Google Scholar; clinicaltrial.gov.

Wykorzystałam słowa kluczowe: IL-13RA2, Bacterial toxin, Diphtheria toxin, Pseudomonas aeruginosa, toxicology, in vivo

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam, że:

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że: dane o toksyczności i dane (toksyko)kinetyczne dostępne dla podobnego związku – IL13 skoniugowanej z toksyną bakteryjną *Pseudomonas aeruginosa* pozwalają na wyznaczenie wstępnych 6 poziomów dawkowania badanego związku IL13-DT.

B. Brak jest danych dotyczących: możliwości wykorzystania innego (niż mysz lub szczurzy) modelu do przeprowadzenia proponowanych badań toksyczności związku IL13-DT w wyznaczenia bezpiecznej dawki niezbędnej do dalszego rozwoju produktu .

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

A. Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku ustalenia wpływu związku IL13-DT na organizm ssaka.

B. Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na stworzeniu innowacyjnej celowanej molekularnie terapii glejaka wielopostaciowego.

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

Głównym celem opisywanego projektu jest określenie bezpiecznej dawki niezbędnej do dalszego rozwoju produktu.

Zachowując wprowadzoną w 1959 roku, przez W. Russela i R. Burcha zasadę 3R uzasadniam podjęte we wniosku wybory dotyczące tematyki, modelu, procedur:

Refinement (udoskonalenie) - Podczas eksperymentów zwierzętom zapewniamy warunki jak najbardziej zbliżone do naturalnych aby efektywnie zmniejszyć odczucie stresu. Myszy przebywają w cichych pokojach z ograniczonym dostępem dla personelu. Klatki zapewniają stały dostęp do pożywienia i wody, zaopatrzone są w domki oraz suchą ściółkę regularnie zmienianą. Przed wykonywaniem operacji lub podania badanych związków, zwierzęta są poddane znieczuleniu wziewnemu (izofluran), a następnie ogólnemu. Do anestezji ogólnej stosowana jest mieszanka ketamina-medetomidyna-morbital. Po uspianiu, a także przed wybudzeniem i w przypadku oznak cierpienia podskórnie podawany jest lek przeciwbólowy (butamidol) oraz ~~antybiotyk~~ i lek przeciwzapalny (tolfedine, ~~baytril~~). Dodatkowo w trakcie i po operacji na ranę podawana jest lidokaina (środek miejscowo znieczulający). Do wybudzania zwierząt z narkozy stosowany jest rewerter (środek znoszący działanie uspokajające medetomidyny). W celu minimalizacji liczby zgonów z powodu wychłodzenia, w trakcie trwania zabiegu i po jego zakończeniu, zwierzęta są przetrzymywane na płytce grzejnej do całkowitego wybudzenia. Następnie są odkładane do klatek domowych o wzbogaconym środowisku umożliwiającym budowę gniazda i zabawę (klocki drewniane, tunele, materiały do budowy gniazd). Zwierzęta przetrzymywane są w przezroczystych klatkach, umożliwiających kontakt wzrokowy z innymi osobnikami.

Stosując zasadę Udoskonalenia niezbędne przy każdym doświadczeniu jest zapewnienie zwierzętom jak najlepszych warunków oraz ograniczenie dotkliwości procedur. W opisywanym projekcie dotkliwości takie mogą wynikać z procedury podawania substancji (iniekcja do żyły ogonowej, iniekcja domózgowa), unieruchomienia, rany głowy czy odseparowania od stada. Stosując zasadę Udoskonalenia podanie dożylnie będzie przeprowadzone w specjalnym stożku do iniekcji z podświetlaniem żyły ogonowej oraz lekkim znieczuleniu ogólnym. W podaniu domózgowym będzie zastosowanych szereg preparatów znieczulających i przeciwbólowych, zgodnie z ogólnie przyjętymi normami weterynaryjnymi. Działaniem ograniczającym stres u zwierząt jest także liczba osób mająca dostęp do zwierząt, ograniczona do opiekuna oraz eksperymentatora.

Replacement (zastąpienie) – W celu uzyskania rzetelnych wyników niezbędne jest przeprowadzenie eksperymentu *in vivo*, jako kolejny etap rozwoju leku po badaniach na hodowlach *in vitro*, które nie są w stanie odzwierciedlić wszystkich czynników występujących w żywym organizmie. Model zwierzęcy jest niezbędny do zaobserwowania zmian fizjologicznych i patologicznych po podaniach różnego stężenia związku IL13-DT drogą dożylną i domózgową.

Reduction (ograniczenie) – Do eksperymentu zostanie wykorzystana minimalna liczba zwierząt niezbędna do uzyskania wiarygodnych wyników. Zwierzęta zostaną poddane humanitarnej procedurze eutanazji redukującej stres i uczucie bólu.

TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy