

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Ocena wpływu inhibitora kinaz PIM na rekrutację makrofagów do guza, ich polaryzację oraz angiogenezę in vivo, w mysim modelu klasycznego chłoniaka Hodgkina (kcH)

2. Czas trwania projektu: 1 rok

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) kinazy PIM, makrofagi, chłoniak Hodgkina

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.

Doświadczenie przetestuje wpływ leku hamującego kinazy PIM na makrofagi w mysim modelu klasycznego chłoniaka Hodgkina. Ze względu na postulowaną rolę makrofagów w rozwoju i leczeniu chłoniaka Hodgkina, badanie jest niezbędne dla określenia skuteczności terapeutycznej leków hamujących kinazy PIM w tej chorobie.

Przewidywane szkody to umiarkowany ból wywołany iniekcją dootrzewnąną podczas znieczulania myszy celem ich unieruchomienia przed naświetlaniem. Prawidłowe napromieniowanie umożliwi zasiedlenie myszy komórkami ludzkiego układu odpornościowego (humanizacja), które w następnym etapie zostaną wstrzyknięte dożylnie, wywołując umiarkowany ból i stres wynikający z unieruchomienia.

Dla potwierdzenia humanizacji pobrana zostanie niewielka ilość krwi z policzka, skutkując chwilowym umiarkowanym bólem. We wziewnym znieczuleniu ogólnym, bez bólu i ograniczając stres, zostaną podskórnie wstrzyknięte komórki, z których powstaną guzy nowotworowe. Guzy będą regularnie bezboleśnie mierzone i nie dopuści się do przekroczenia przez nie wielkości mającej negatywny wpływ na dobrostan. W celu uniknięcia lub złagodzenia ewentualnych podrażnień przewodu pokarmowego po wielokrotnym podawaniu leku, podawanie dożołądkowe będzie następować po wziewnym znieczuleniu ogólnym przy użyciu elastycznych sond przeznaczonych dla myszy. Ostatnim etapem będzie humanitarne uśmiercenie, które nastąpi po upływie określonego czasu lub, gdy wystąpią objawy znacznego pogorszenia dobrostanu, aby nie dopuścić do cierpienia zwierząt.

Klasyfikacja procedur: [PT21] (badania translacyjne lub stosowane) nowotwór u człowieka. Klasyfikacja wynika z faktu, iż badanie będzie dotyczyło leczenia przeciwnowotworowego ludzi. Wykazanie zahamowania wzrostu nowotworu w organizmie mysim po podaniu testowanych leków pozwoli na potwierdzenie ich skuteczności w warunkach *in vivo* i jest niezbędnym etapem przed przystąpieniem do badań klinicznych. Doświadczenie może przyczynić się do poprawy skuteczności leczenia przeciwnowotworowego u pacjentów z klasycznym chłoniakiem Hodgkina.

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

20 myszy domowych (*mus musculus*)

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

Zastąpienie (replacement). Użycie zwierząt w badaniach nad nowymi lekami przeciwnowotworowymi jest konieczne, ponieważ testy na hodowlach komórkowych *in vitro* nie dostarczają informacji, które dostarczyć może organizm. Wyniki naszych badań w modelach *in vitro* wskazują że farmakologiczne zahamowanie kinazy PIM w komórkach nowotworowych chłoniaka Hodgkina hamuje produkcję czynników związanych z rekrutacją i przeprogramowaniem makrofagów, a w makrofagach, osłabia produkcję białek immunosupresyjnych oraz czynników indukujących powstawanie naczyń

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

krwionośnych. Potwierdzenie tych obserwacji w modelu zwierzęcym stanowić będzie istotny dowód świadczący o wysokim potencjale terapeutycznym badanego inhibitora w chorobie jak i również wskazanie do przeprowadzenia badań klinicznych. Ponieważ w modelu in vitro nie umożliwiają oceny takich parametrów jak biodostępność inhibitora dla komórek nowotworowych i makrofagów lub procesy metaboliczne, którym podany lek jest poddawany w organizmie, etap pośredni między hodowlą komórkową a człowiekiem jest więc tutaj niezbędny i zastąpienie go nie jest możliwe.

Ograniczenie (reduction). Myszy laboratoryjne są podstawowym modelem zwierzęcym wykorzystywanym w badaniach onkologicznych. Istotny jest odpowiedni dobór zwierząt doświadczalnych, by uzyskiwane wyniki były powtarzalne i porównywalne. Do niniejszego eksperymentu wykorzystane zostaną myszy charakteryzujące się wysokim odsetkiem przyjmowania przeszczepów ludzkich nowotworowych linii komórkowych. Wybór tego szczepu umożliwi uzyskanie wzrostu guzów we wszystkich wykorzystanych myszach. Proponowana do wykorzystania liczba zwierząt jest minimalną, zapewniającą uzyskanie statystycznie istotnych i porównywalnych z danymi literaturowymi wyników.

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 wszystkich zwierząt poprzez dostarczenie dodatkowych schronień (tekturowe lub plastikowe rurki lub/i domki) oraz dodatkowego materiału na gniazda. Zwierzęta będą przed rozpoczęciem doświadczenia aklimatyzowane oraz przez cały czas trwania doświadczenia obsługiwane przez wykwalifikowanych pracowników, do kontaktu z którymi zostaną przyzwyczajone. Pozwoli to znacząco zmniejszyć stres myszy w trakcie doświadczenia.

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: x EBSCO; x PUBMED; x Google Scholar; x ScienceDirect; x Web of Science (JCR). Wykorzystano słowa kluczowe: cancer/mice/xenograft/cancer cell lines/mouse models/immunodeficient mice/oncology/PIM kinases/L428/RS cells. Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzono, że: myszy NSG są optymalnym modelem wykorzystywanym w tego typu badaniach. W pracy Li F, Ulrich M, Jonas M, et al. Tumor-Associated Macrophages Can Contribute to Antitumor Activity through FcγR-Mediated Processing of Antibody-Drug Conjugates. Mol Cancer Ther. 2017;16(7):1347-1354 wykazano iż ksenoprzeszczep linii L428 do myszy NSG powoduje

naciek mysich makrofagów do guza nowotworowego. Zatem istnieje wysokie prawdopodobieństwo iż w planowanym modelu otrzymany zostanie naciek ludzkich monocytów/makrofagów do guza nowotworowego. Na podstawie publikacji Szydlowski M, Prochorec-Sobieszek M, Szumera-Cieckiewicz A, et al. Expression of PIM kinases in Reed-Sternberg cells fosters immune privilege and tumor cell survival in Hodgkin lymphoma. doi: 10.1182/blood-2017-01-760702 zostały dobrane dawka i sposób podania podawanego inhibitora kinaz PIM.

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.