

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

Tytuł projektu:

Zbadanie wpływu mikrośrodowiska nowotworu na odpowiedź przeciwnowotworową oraz skuteczność wybranych immunoterapii.

1. Czas trwania projektu **cztery lata**

2. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) **immunometabolizm, metabolity, odpowiedź przeciwnowotworowa, immunoterapia, punkty kontrolne układu odpornościowego**

3. 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 projektu jest zbadanie, jak mikrośrodowisko nowotworu wpływa na aktywność komórek układu odpornościowego. Ocenimy jak poszczególne metabolity uwalniane przez komórki nowotworowe wpływają na terapię przeciwnowotworową celującą w punkty kontrolne odpowiedzi immunologicznej (np. PD-L1). Ucieczka komórek nowotworowych spod nadzoru immunologicznego stanowi jeden z najważniejszych mechanizmów umożliwiających rozwój i progresję nowotworów. Dzięki odkryciu tzw. punktów kontroli odpowiedzi immunologicznej udało się zdefiniować nowe cele dla immunoterapii ukierunkowanej molekularnie. Ligandy PD-L1 i PD-L2 wiążą receptor PD-1 na limfocytach T i hamują

ich aktywność. Poprzez ten mechanizm, dochodzi do zablokowania odpowiedzi immunologicznej. Fizjologiczne PD-1 zmniejsza aktywność limfocytów T w tkankach obwodowych, aby ograniczyć ich uszkodzenie podczas odpowiedzi odpornościowej. Uzyskane wyniki pozwolą przede wszystkim określić skład metabolomu mikrośrodowiska nowotworu. Pozwoli to na sprawdzenie, jakie metabolity regulują odpowiedź odpornościową oraz czy wpływają na skuteczność terapii przeciwnowotworowej opartej na komórkach CAR-T (anty-PD-L1). Wyniki otrzymane w projekcie przyczynią się do lepszego zrozumienia zjawisk związanych z udziałem układu odpornościowego jak i rozwoju terapii mających na celu pobudzenie przeciwnowotworowej odpowiedzi odpornościowej. Jedną z koncepcji tego projektu jest zwiększenie potencjału przeciwnowotworowego CAR-T. Dlatego wciąż istnieje pilna potrzeba udoskonalania obecnych i opracowania nowych strategii leczenia. Badania przeprowadzimy na myszach typu dzikiego oraz myszach z niedoborem odporności. W związku z tym będziemy badać zależności między układem odpornościowym myszy, a guzem nowotworowym (jego metabolomem) oraz stopień aktywacji komórek immunologicznych oraz ich wpływ na tempo wzrostu guza. Nie sposób odwzorować ten układ eksperymentalny bez wykorzystania całego organizmu. Wszystkie procedury zostały zaplanowane tak aby ograniczyć do minimum stres oraz dyskomfort zwierząt. Procedury wszczepienia sondy oraz podanie komórek nowotworowych będzie poprzedzone znieczuleniem myszy, co również może wywołać stres związany z chwytem myszy oraz chwilowy ból związany z ukuciem igłą. Przewidywanej dotkliwości procedur w ramach projektu związana będzie z rozwojem choroby nowotworowej, co wiąże się z tym, że zwierzęta będą mogły odczuwać ból, stres. W celu ograniczenia szkód po stronie zwierząt stosowane będą odpowiednie elementy wzbogacające środowisko, takiej jak domki dla myszy i materiały gniazdowe oraz w trakcie doświadczeń stosowany będzie podwyższony monitoring zdrowia myszy. Po zakończeniu procedury myszy zostaną uśmiercone.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mysz domowa

Całkowita liczba myszy: **540**

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Zasada zastąpienia

W niniejszym projekcie chcemy ocenić wpływ mikrośrodowiska nowotworu na odpowiedź przeciwnowotworową. Ponadto zbadamy wpływ wybranych metabolitów na efektywność nowoczesnej immunoterapii adoptywnej CAR-T. Terapia ta, oparta na genetycznej modyfikacji limfocytów T za pomocą chimerycznych receptorów antygenowych (CAR), znalazła współcześnie zastosowanie w leczeniu ostrych białaczek limfoblastycznych i limfocytowych oraz chłoniaków złośliwych B-komórkowych, jednak na świecie trwają obecnie badania kliniczne mające na celu ocenę skuteczności terapii CAR-T w guzach litych, takich jak rak płuc, rak piersi, glejak wielopostaciowy czy rak trzustki. Inną, obiecującą strategią przeciwnowotworową jest zastosowanie inhibitorów punktów kontrolnych układu odpornościowego. Skuteczność działania przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko punktom kontrolnym hamującym odpowiedź immunologiczną została potwierdzona w leczeniu takich nowotworów jak czerniak złośliwy, niedrobnokomórkowy rak płuca, rak jelita grubego i pęcherza moczowego, neuroendokrynnny rak skóry czy chłoniak Hodgkina. Niestety, znaczna część chorych nie reaguje na terapię, dlatego wciąż poszukiwane są metody prowadzące do udoskonalenia obecnych i opracowania nowych strategii leczenia. W związku z tym będziemy badać zależności między układem odpornościowym myszy, a guzem nowotworowym oraz stopień aktywacji komórek immunologicznych oraz ich wpływ na tempo wzrostu guza. Nie sposób odwzorować tego układu eksperymentalnego bez wykorzystania całego organizmu.

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: Google Scholar, Web of Science (JCR) oraz PubMed wykorzystując następujące słowa kluczowe: CAR T cells therapy, immunotherapy, metabolites, immune-metabolism, immune cells, tumor microenvironment, immune checkpoints, T cells, monoclonal antibodies, tumor therapy, antitumour immune response

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzam, że nie ma obecnie sposobu na wierne odwzorowanie mikrośrodowiska guza nowotworowego w interakcji z komórkami układu odpornościowego.

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

Zasada ograniczenia

Planowane badania uwzględniają ich wykonanie na najniższej możliwej liczbie zwierząt w poszczególnych grupach (liczebność ustalona została z wykorzystaniem narzędzi statystycznych). Do każdej procedury, oddzielnie zaplanowano grupy kontrolne które muszą być uwzględnione, ponieważ parametry mierzone (np. rozrost nowotworu) charakteryzują się bardzo dużą zmiennością pomiędzy eksperymentami. Zaplanowane procedury eksperymentalne zostały tak zaplanowane, aby ograniczyć ból, strach oraz cierpienie.

Zasada udoskonalenia

Wszystkie procedury zostały zaplanowane tak aby ograniczyć do minimum stres oraz dyskomfort zwierząt. Eksperymenty przeprowadzane będą przez doświadczonych pracowników posiadających odpowiednie kwalifikacje i wiedzę ze szczególnym nastawieniem na zminimalizowanie dystresu u zwierząt. Objętości podawanych iniekcji mieszczą się w granicach rekomendowanych i dopuszczonych wg. prawa. Wykorzystywane zwierzęta będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku. Myszy szczepu BALB/c i C57BL/6J oraz NSG będą przebywały w klatkach indywidualnie wentylowanymi i zostaną im zapewnione optymalne warunki bytowania. W tym celu stosowane będą odpowiednie elementy wzbogacające środowisko, takiej jak domki dla myszy i materiały gniazdowe. Ponadto, w trakcie doświadczeń stosowany będzie podwyższony monitoring zdrowia myszy.

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.