

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Porównanie drogi podania indoksymodu – substancji o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym u dorosłych szczurów – badania wstępne

2. Czas trwania projektu: od 04.11.2019 r. do 31.10. 2020 r.

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): indoksymod, IDO inhibitor, tryptofan, szlak kynureninowy, nowotwór.

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.

2,3-dioksygenaza indoloaminy 1 (IDO1) jest jednym z enzymów katalizujących reakcję degradacji tryptofanu wzdłuż szlaku kynureninowego. Dowiedziono, że enzym ten odgrywa ważną rolę w wielu procesach biologicznych takich jak modulacja odpowiedzi immunologicznej czy starzenie się organizmu, procesy neurodegeneracyjne jak i choroby nowotworowe. W przebiegu choroby nowotworowej dochodzi do nasilenia aktywności enzymu IDO1, który może tłumić odpowiedzi immunologiczne w komórkach odpornościowych gospodarza w wyniku hamowania aktywności limfocytów T. Ponadto, w badaniach przedklinicznych podwyższona aktywność szlaku kynureninowego była powiązana z upośledzeniem odporności przeciwnowotworowej. Obecnie wiele uwagi poświęca się związkom hamującym aktywność

tego enzymu jako substancji o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym. Jednym ze związków hamujących aktywność IDO1, o potencjalnym działaniu przeciwnowotworowym jest indoksymod, który znajduje się w fazie badań klinicznych.

Celem naszego badania jest porównanie następstw podania indoksymodu dwiema drogami: drogą alimentarną (podanie dożołądkowe) (procedura 1, czynność 2) i w iniekcji (podanie podskórne) (procedura 1, czynność 2) i uzyskanie odpowiedzi na pytanie czy różna droga podania indoksymodu będzie miała wpływ na poziom metabolitów szlaku kynureninowego (tryptofan, kynurenina, kwas kynureninowy, 3-hydroksykynurenina). Uzyskane wyniki będą stanowiły podstawę przy planowaniu dalszych badań nad znaczeniem hamowania szlaku kynureninowego dla funkcjonowania układu immunologicznego.

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

W doświadczeniu zostaną wykorzystane szczury samce szczepu Wistar, dorosłe osobniki o masie ciała 200-300 g – 48 zwierząt.

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

Przygotowując projekt badawczy sprawdzona została istniejąca wiedza w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych PubMed, Web of Science (JCR) oraz Science Direct. Wykorzystano następujące słowa kluczowe: indoximod, IDO inhibitor, tryptophan, kynurenine pathway, tumor, rats.

Przeglądając dostępną literaturę stwierdziłam, że zgromadzone dane literaturowe uzasadniają zaplanowane doświadczenie. Pozwoli ono odpowiedzieć na pytanie czy różna droga podania indoksymodu będzie miała wpływ na poziom metabolitów szlaku kynureninowego (tryptofan, kynurenina, kwas kynureninowy, 3-hydroksykynurenina). Uzyskane wyniki będą stanowiły podstawę przy planowaniu dalszych badań.

Przygotowując projekt badawczy zastosowałam zasadę 3R:

**REPLACEMENT** - *zastąpienie doświadczeń na zwierzętach metodami in vitro (hodowle komórkowe, tkankowe), zastąpienie zwierzętami o niższym stopniu rozwoju ewolucyjnego;*

Ze względu na zaplanowane doświadczenie niemożliwe jest porównanie drogi podania indoksymodu za pomocą techniki in vitro. Niewskazane jest także zastąpienie szczurów wędrownych zwierzętami o niższym stopniu rozwoju ewolucyjnego, z tego względu, że doświadczenia te nie dostarczą wyników tak wiarygodnych jak te, które przeprowadzone są na szczurach i które będzie można odnieść do problemów klinicznych obserwowanych u ludzi. Badania te mogą przyczynić się do zweryfikowania różnic w poziomie metabolitów szlaku kynureninowego w zależności od drogi podania (podanie dożołądkowe a podanie podskórne).

**REDUCTION** - *zmniejszenie liczby zwierząt poprzez lepsze wykorzystanie metod statystycznych.*

W badaniach zaplanowano najmniejszą liczbę zwierząt (6 zwierząt w grupie) pozwalającą na uzyskanie wiarygodnych wyników, stwarzających możliwość analizy statystycznej. Jest to liczba zwierząt w grupie, ustalona zgodnie z wymogami stawianymi przez zasadę 3R, która jednocześnie pozwala na uzyskanie wiarygodnych, powtarzalnych, dających się opracować statystycznie wyników (analiza wariancji jedno-i dwuskładnikowa ANOVA oraz testu post-hoc Tukey'a).

Minimalizacja liczby zwierząt w grupie doświadczalnej była możliwa również dzięki ograniczeniu zmienności wśród zwierząt poprzez stały mikroklimat w Zwierzętarni podczas doświadczenia, jednorodność wieku, płci oraz masy ciała wśród wszystkich osobników. Dodatkowo środowisko, w którym będą przebywały szczury, zostanie wzbogacone o tunele oraz klocki drewniane w celu poprawy dobrostanu zwierząt.

**REFINEMENT** – *zmiana procedury eksperymentalnej na przysparzającą zwierzętom mniej cierpień* Zaplanowane modele eksperymentalne ograniczają cierpienie zwierząt. W przypadku wystąpienia objawów niepożądanych w trakcie doświadczenia (duszności, drgawki, niezdolność ruchowa) podjęte będą zabiegi zgodnie z zasadami wcześniejszego, humanitarnego zakończenia procedury. Zwierzęta zostaną uśmiercone poprzez dekapitację, a następnie materiał biologiczny zostanie pobrany do dalszych badań biochemicznych. W niniejszym projekcie nie ma możliwości

uniknięcia wielokrotnych iniekcji (indoksymod będzie podawany dwa razy dziennie przez trzy dni), które poszerzą wiedzę m.in. nt. różnic w poziomie metabolitów szlaku kynureninowego w zależności od drogi podania (podanie dożołądkowe a podanie podskórne).

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną

- TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy

☒ NIE