

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Kombinacja radioterapii z imikwimodem i sunitynibem jako nowa strategia terapeutyczna omijająca niektóre mechanizmy radio-oporności mikrośrodowiska nowotworowego

2. Czas trwania projektu: 4 lata

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): czerniak, brachyterapia, imikwimod, sunitynib

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.

Radioterapia jest jedną z głównych metod leczenia chorych na nowotwory. Niszczy komórki nowotworowe. Wpływ dawek radioterapii na mikrośrodowisko guza (tkankę nowotworową) nie jest do końca jasny. Powstają mechanizmy radio-oporności (głównie immunosupresja i hipoksja), które prowadzą do nawrotu choroby.

Głównym celem projektu jest udowodnienie hipotezy, że odpowiednia kombinacja radioterapii z lekami przekształcającymi mikrośrodowisko nowotworowe może ominąć niektóre mechanizmy oporności na radioterapię i zwiększyć jej skuteczność terapeutyczną. Planujemy zastosować brachyterapię (radioterapię kontaktową) w połączeniu z imikwimodem (lek stymulujący odpowiedź odpornościową i może pełnić rolę radiouczulacza) i sunitynibem (lek hamujący tworzenie

nowotworowych naczyń krwionośnych, działa również jako czynnik immunostymulujący).

Kombinacja radioterapii z w/w lekami może przyczynić się do zwiększenia jej skuteczności terapeutycznej. Aby potwierdzić nasze przypuszczenia zaplanowaliśmy kilka doświadczeń na modelu czerniaka, nowotworu złośliwego skóry, który jest oporny na działanie radioterapii. Jako model doświadczalny będziemy wykorzystywać myszy, którym śródskórnym zostaną wprowadzone komórki nowotworowe mysiego czerniaka B16-F10. Po 10 dniach od podania komórek, gdy powstaną guzy pierwotne, rozpoczniemy stosowanie brachyterapii i/ lub podawanie leków. Zbadamy w jaki sposób różne dawki radioterapii, imikwimodu i sunitynibu wpływają na mikrośrodowisko nowotworowe. Ocenimy czy kombinacja optymalnych dawek leków ominię niektóre mechanizmy oporności (głównie immunosupresję i hipoksję) na radioterapię i zwiększy jej skuteczność przeciwnowotworową. Na zakończenie doświadczenia myszy zostaną humanitarnie uśmiercone, a następnie zostaną pobrane guzy oraz narządy wewnętrzne do dalszych badań immunohistochemicznych i cytometrycznych.

Doświadczenie zostało zaplanowane w taki sposób, aby zwierzęta biorące w nim udział, w możliwie najmniejszym stopniu odczuwały stres oraz ból. W trakcie badania zwierzęta będą narażone na kilkukrotne ukłucie igłą oraz kilkukrotne uśpienie w celu przeprowadzenia zaplanowanego badania.

Sądzimy, że uzyskane przez nas wyniki pokażą nowe możliwości łączenia radioterapii z lekami immunomodulującymi i antyangiogennymi w ramach jednej przeciwnowotworowej strategii terapeutycznej. W przyszłości może przyczynić się to do zmiany stosowanych w klinice schematów leczenia.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniu wykorzystanych zostanie 1338 myszy szczepu C57BL/6NCrL

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych: PUBMED oraz Google Scholar.

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

Wykorzystano słowa kluczowe: melanoma, brachytherapy, imiquimod, sunitinib

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzono że: brak jest dostępnych danych dotyczących stosowania brachyterapii (radioterapii kontaktowej) w kombinacji z imikwimodem i sunitynibem do hamowania wzrostu guzów mysiego czerniaka B16-F10. Ponadto, nie ma jednoznacznych danych dotyczących optymalnej dawki i schematu radioterapii. Dlatego uzasadnione jest przeprowadzenie dalszych badań w tym zakresie. Nasze badania powinny również dostarczyć dodatkowych informacji na temat wpływu imikwimodu i sunitynibu na komórki mikrośrodowiska guza, w tym fenotyp makrofagów związanych z nowotworem lub inne subpopulacje komórek odpornościowych, a także na naczynia krwionośne guza.

Przygotowując doświadczenie uwzględniono zasadę zastąpienia, ograniczenia i udoskonalenia (3R):

1) W projekcie chcemy zwrócić uwagę na fakt, że nowotwór składa się nie tylko z komórek nowotworowych, ale także z otaczającego go mikrośrodowiska, które może uczestniczyć w aktywacji mechanizmów oporności na radioterapię. W ramach projektu planujemy zbadać wpływ różnych dawek brachyterapii na mikrośrodowisko guza czerniaka mysiego: poziomy i fenotypy komórek odpornościowych infiltrujących nowotwór, stan naczyń krwionośnych guza i obszary niedotlenienia. Sprawdzimy również wpływ dawek na hamowanie wzrostu guza. Proponowane przez nas badanie można wykonać jedynie *in vivo* z wykorzystaniem zwierząt laboratoryjnych, w tym wypadku myszy. Obecnie nie ma możliwości, stworzenia *in vitro* na hodowlach tkankowych, układu badawczego odwzorowującego złożone mikrośrodowisko guza: nowotworowe naczynia krwionośne oraz napływające komórki układu odpornościowego (zasada zastąpienia).

2) Doświadczenia w projekcie zostały zaprojektowane tak, aby ograniczyć do minimum liczbę zwierząt, przy jednoczesnym zachowaniu istotności statystycznej uzyskanych wyników. Przewidziane procedury będą prowadzone w taki sposób aby po ich zakończeniu uzyskać maksymalną liczbę wyników (zasada ograniczenia).

3) Doświadczenia, które planujemy przeprowadzić, zostało przez nas zaplanowane w taki sposób, aby do minimum ograniczyć ból i stres mysz. Myszy będą trzymane w indywidualnie wentylowanych klatkach, w odpowiedniej dla nich temperaturze i wilgotności. Podczas procedury napromieniania stan myszy będzie nieustannie monitorowany, po czym będą owijane w ligninę w celu zminimalizowania utraty ciepła. Dawki promieniowania, jaką otrzymają myszy będą zbliżone do tych, jakie otrzymują

pacjenci podczas radioterapii nowotworów, ustalone na podstawie danych literaturowych. Dawki te nie powinny mieć znaczącego negatywnego wpływu na komfort życia zwierząt. Ich stan będzie nieustannie monitorowany przez wykwalifikowany personel oraz otoczone będą opieką weterynaryjną (siedem dni w tygodniu). Mysz będzie miała całodobowy dostęp do świeżej wody i specjalistycznej paszy. W celu wzbogacenia środowiska w klatkach oprócz podstawowej, niepylącej, chłonnej osikowej ściółki będzie również ściółka przeznaczona do budowy gniazd. W pomieszczeniu hodowlanym będzie zachowany 12 godzinny cykl dobowy światła (dzień/noc).

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.