

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

Tytuł projektu **Zbadanie roli arginazy-1 jako potencjalnego celu terapii w leczeniu szpiczaka oraz w zmniejszaniu kardiotoksycznego działania inhibitorów proteasomu**

1.Czas trwania projektu: 15 czerwca 2018 – 30 maja 2021

2.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów)

3.Cel projektu (art. 3 ustawy): A. Badania podstawowe

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.

Szpiczak plazmocytowy to śmiertelny nowotwór wywodzący się ze zróżnicowanych limfocytów B. W naszych poprzednich badaniach wykazaliśmy, że bortezomib, inhibitor proteasomu stosowany w leczeniu szpiczaka, odwracalnie uszkadza mięsień sercowy. Dane literaturowe wskazują na to, że przypuszczalny mechanizm tego działania może wynikać z zahamowania syntezy tlenku azotu (NO). Potwierdzają to nasze kolejne badania, w których zaobserwowaliśmy, że sildenafil – lek aktywujący w komórkach szlak przekazywania sygnałów związany z działaniem NO, częściowo odwraca kardiotoksyczne działanie bortezomibu. Substratem do wytworzenia NO jest aminokwas L-arginina. Aminokwas ten jest w organizmie metabolizowany również przez inne enzymy, w tym arginazę-1 (Arg-1), która go degradowa. Wysuwamy zatem hipotezę, że inhibitor Arg-1 może zmniejszać kardiotoksyczne działanie bortezomibu. Jednocześnie Arg-1 jest enzymem wytwarzanym przez komórki zrębu wielu rodzajów nowotworów, który bardzo silnie hamuje proliferację limfocytów i rozwój swoistej odpowiedzi przeciwnowotworowej. Dotychczas nie badano jednak dokładnie funkcji tego enzymu w progresji szpiczaka plazmocyto. Celem zaplanowanych przez nas badań jest zatem sprawdzenie, czy rzeczywiście Arg-1 odgrywa rolę w zahamowaniu skutecznej odpowiedzi immunologicznej a tym samym w progresji szpiczaka. W naszych badaniach ocenimy, czy brak Arg-1 lub farmakologiczne zahamowanie aktywności tego enzymu wpłyną na progresję szpiczaka i rozwój odpowiedzi immunologicznej. Zbadamy również, czy inhibitor Arg-1 może nasilać przeciwnowotworowe działanie bortezomibu oraz czy zmniejszy jego kardiotoksyczność u zwierząt. Wiedza zdobyta dzięki tym badaniom pozwoli lepiej rozumieć molekularne mechanizmy związane z rozwojem szpiczaka, przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej i działań niepożądanych leków stosowanych w onkologii. Mamy nadzieję, że wyniki naszych badań umożliwią również zidentyfikowanie nowych obszarów badawczych, które będzie można wykorzystać w rozwoju immunologii, kardioonkologii i onkologii doświadczalnej.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniach użyte zostaną myszy szczepów C57BL/6 – 166 sztuk, B6.129S4-Arg1^{tm1Lky} (**YARG**) – 42 sztuki, Arg1^{tm1Pmu/J}×B6.129-Gt(ROSA)26Sort^{tm1(cre/ERT2)}TyJ/J – myszy z indukowalnym tamoksyfenem wycięciem obu kopii genu dla arginazy-1 (**Arg-1 KO**) – 116 sztuk oraz Lyz2^{tm1(cre)}Ifo×Arg1^{tm1Pmu/J} – myszy z wycięciem obu kopii genu dla arginazy-1 w komórkach linii mieloidalnej (**Mielo Arg-1 KO**) – 28 sztuk.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą wiedzę dotyczącą w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych PUBMED oraz SCOPUS. Przy wyszukiwaniu zastosowano następujące zestawy słów kluczowych:

- myeloma AND arginase AND arginase inhibitor OAT-1746

nie uzyskując żadnego rekordu wskazującego na to, że planowane przez zjawisko było przez kogokolwiek badana. Nikt do tej pory nie badał roli arginazy-1 w mysich modelach szpiczaka oraz nie oceniał przeciwnowotworowego działania inhibitorów tego enzymu w tej chorobie. Inhibitory arginazy były badane w mysich modelach guzów litych (czerniak B16F10, rak płuca Lewisa - LLC, gruczolakorak okrężnicy – CT26, rak sutka 4T1).

Zasada zastąpienia

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzono że brak jest danych umożliwiających zweryfikowanie proponowanej hipotezy badawczej. Nie znaleziono również modeli in vitro umożliwiających odzwierciedlenie wszystkich interakcji pomiędzy nowotworem a układem odpornościowym zachodzących w organizmie żywym, których uwzględnienie w badaniu jest niezbędne do prawidłowego ocenienia badanego zjawiska. Z tych powodów zdecydowano się na przeprowadzenie badań z użyciem zwierzęcego modelu doświadczalnego.

Zasada ograniczenia

Planowane badania uwzględniają ich wykonanie na najmniejszej możliwej liczbie zwierząt w poszczególnych grupach. Przewidziana liczba zwierząt jest niezbędna do przeprowadzenia prawidłowej interpretacji otrzymanych wyników.

Zasada udoskonalenia

Wszystkie czynności opisane we wniosku zostały zaplanowane tak, aby ograniczyć do minimum stres oraz dyskomfort zwierząt użytych w doświadczeniu. Objawy przyżyciowe, monitorowane codziennie w czasie eksperymentu (masa ciała zwierząt, zachowanie) będą wykorzystane do monitorowania stopnia zaawansowania nowotworu. Rozwój choroby nowotworowej wiąże się z występowaniem objawów, które mogą być źródłem dyskomfortu dla zwierząt. Planujemy jednak uśmiercenie zwierząt zanim choroba rozwinie się do stadium, w którym zwierzę doświadczałoby cierpienia. Wyznaczone przez nas kryteria stanu zaawansowania choroby są parametrami uznanymi dla danych modeli i stosowanymi przez inne grupy badawcze na świecie. Związki, które planujemy podawać zwierzętom były już

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

wcześniej wielokrotnie stosowane w badaniach in vivo. Bortezomib i karfilzomib są lekami zarejestrowanymi przez FDA i stosowanymi w leczeniu szpiczaka mnogiego i chłoniaka z komórek płaszcza. Jednak jak większość terapii przeciwnowotworowych mogą wywoływać działania niepożądane, takie jak zaburzenia ze strony układu pokarmowego oraz neutropenia czy niedokrwistość. Zaproponowana przez nas dawka i schemat podawania leków są przyjętym sposobem przeprowadzania badań in vivo z użyciem inhibitorów proteasomu zapewniającym skuteczność terapii przy minimalnym występowaniu efektów ubocznych. Inhibitor arginazy – OAT-1845 był podawany w badaniach in vivo w proponowanej przez nas dawce, gdzie nie wywoływał efektów toksycznych.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

☐ ~~TAK~~ na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy

☐ ~~TAK~~ na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy

X NIE

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.