

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „Ocena wpływu normalizacji unaczynienia guza na skuteczność terapeutycznych szczepionek czerniakowych w modelu mysim”

2. Czas trwania projektu 01.02.2018 – 31.12.2020

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) czerniak, mikrośrodowisko, unaczynienie, model mysim

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.

Głównym celem projektu jest zwiększenie skuteczności immunoterapii z wykorzystaniem leczniczych szczepionek czerniakowych poprzez ich skojarzenie z cząsteczkami normalizującymi niedotlenienie w guzie w doświadczalnym modelu mysim. Planowane badania pomogą lepiej poznać i zrozumieć działanie obronnych mechanizmów przeciwnowotworowych, relacji między nowotworem i pacjentem, a także rolę nowotworowych komórek macierzystych (CSC) i unaczynienia w przebudowie struktury guza.

W badaniach wykorzystany będzie model odrzucania guza polegający na wszczepianiu myszom (C57BL6/J) CSC czerniakowych linii B16F10, które będą leczone szczepionką lub cząsteczką zwiększającą natlenienie guza (ITPP), lub podaniem obu leków razem. Obserwowany będzie efekt

lecniczy skojarzenia obu terapii względem leków podawanych oddzielnie. Ponadto, analizowane będą mechanizmy działania obu leków. Aby zminimalizować dyskomfort zwierząt oraz zapewnić im jak najlepsze warunki bytowania, oprócz nieograniczonego dostępu myszy do świeżej karmy oraz wody pitnej, wewnątrz klatek zostanie urozmaicone obecnością drewnianych klocków oraz bawełnianych kokonów, a każdy kontakt ze zwierzęciem będzie odbywał się w przyjaznej atmosferze, z okazaniem empatii ze strony osób prowadzących doświadczenie. Główny dyskomfort zwierząt będzie wiązał się z koniecznością wykonania wkłucia podskórnego, przy czym wywołany w ten sposób ból będzie zminimalizowany dzięki doskonałym umiejętnościom technicznym operatora. Projekt badawczy poddaje również analizie mechanizmy cząsteczkowe leżące u podłoża wpływu nowotworu na pacjenta oraz pacjenta na nowotwór. Badania obejmą też analizy roli macierzystych komórek nowotworowych i unaczynienia guza w procesie nowotworowym. W związku ze złożonością procesów zachodzących w żywym organizmie nie ma możliwości zastosowania alternatywnego modelu *in vitro*. Jedynie zastosowanie badań *in vivo* na zwierzętach umożliwi ocenę działania i efektywności terapeutycznej nowatorskiej strategii skojarzonego leczenia, co jest wymagane przed podaniem leków ludziom.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

621 mysz domowa *Mus musculus*, szczep C57BL6/J

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Planowany projekt jest konsekwencją i kontynuacją naszych wcześniejszych badań pt. “Analiza immunogenności i aktywności terapeutycznej komórkowych szczepionek nowotworowych opartych o macierzyste komórki nowotworowe i indukowalne komórki macierzyste w mysim modelu czerniaka” (projekt NCN Opus nr UMO-2012/07/B/NZ6/03495). W projekcie badawczym analizowane będą mechanizmy cząsteczkowe leżące u podłoża interakcji zachodzących między nowotworem i gospodarzem oraz badana będzie rola macierzystych komórek nowotworowych i unaczynienia guza w procesie modelowania jego mikrośrodowiska. Wyklucza to możliwość zastosowania alternatywnego modelu *in vitro*, który nie pozwala na zbadanie procesów wymagających interakcji komórek w mikrośrodowisku guza oraz unaczyniania. Zastosowanie modelu ksenogenicznego pozwala na

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

najbliższe odzwierciedlenie procesów nowotworzenia zachodzących u człowieka.

W celu ograniczenia liczby zwierząt użytych w doświadczeniu, planuje się odstępnie od wykonania trzeciego powtórzenia eksperymentu, jeżeli wyniki otrzymane w dwóch niezależnych powtórzeniach każdego eksperymentu będą porównywalne i wystarczające do wyprowadzenia jednoznacznych i istotnych statystycznie wniosków z eksperymentu. Ponadto wykonany zostanie wstępny eksperyment polegający na ocenie wpływu leczenia mio-inozytolem-tris-pirofosforanu (ITPP) na kompensację hipoksji i normalizację unaczynienia w uformowanych guzach, na mniejszej liczbie zwierząt. Na podstawie uzyskanych wyników zaplanowana będzie strategia kojarzenia immunizacji z normalizacją hipoksji wykorzystana w kolejnej procedurze, co ograniczy ilość wykorzystanych myszy o 2/3.

W celu ograniczenia stresu i dyskomfortu, zwierzęta będą umieszczone w klatkach w grupach eksperymentalnych (maksymalnie 5 myszy w klatce) pierwszego dnia po dostarczeniu do zwierzętarni i warunki klatkowe nie będą zmieniane do końca trwania eksperymentów.

W celu zminimalizowania dyskomfortu zwierząt wykorzystanych w doświadczeniu, planuje się urozmaicenie miejsca ich bytowania poprzez zastosowanie zabawek oraz dodatkowego materiału gniazdowego, co zmniejszy stopień ich agresji i niepokój. Każdy kontakt ze zwierzęciem będzie odbywał się w atmosferze opanowania i spokoju, z oswojeniem zwierzęcia przez rozpoczęciem jakiegokolwiek czynności, z jak najlepszym wykorzystaniem umiejętności technicznych oraz empatią ze strony osób prowadzących doświadczenie.