

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Optymalizacja protokołu badania aktywności wybranego szlaku metabolicznego *in vivo* w modelu ksenograftu
2. Czas trwania projektu: 8 miesięcy
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): ksenograft, metabolizm nowotworów, farmakodynamika
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.

W ramach realizowanego projektu naukowego, opracowywane są związki małocząsteczkowe o właściwościach przeciwnowotworowych, hamujące aktywność enzymu należącego do wybranego szlaku metabolicznego. Przed podaniem opracowanych związków zwierzętom w celu potwierdzenia ich skuteczności *in vivo*, w pierwszej kolejności należy zoptymalizować metodę pomiaru aktywności wybranego enzymu w podskórnych guzach nowotworowych (model ksenograftu). Aktywność ta będzie mierzona poprzez podanie substratów dla enzymu, a następnie analizę poziomu jego metabolitów w pobranym materiale.

Planowane pilotażowe badanie *in vivo* będzie przeprowadzone w organizmie myszy, ponieważ jest to standardowy gatunek stosowany w modelach onkologicznych. Myszy będą miały podskórnie wszczepione ludzkie komórki wybranej linii nowotworowej i będą przypisane do 5 grup eksperymentalnych, różniących się sposobem podania (woda pitna lub dawkowanie dożołądkowe), czasem podań (1-3 dni) i rodzajem podanego substratu (pochodna substratu, powolne udostępniana enzymowi, lub substrat o natychmiastowej dostępności). Masa ciała i stan zdrowia zwierząt będą monitorowane codziennie, a na zakończenie eksperymentu, w celu zbadania poziomu podawanych

substratów oraz ich metabolitów, od każdego zwierzęcia zostanie pobrana krew, guzy nowotworowe i wybrane narządy wewnętrzne. W jednym badaniu pilotażowym będzie możliwość zbadania zmiennych takich jak czas podań, sposób podań oraz rodzaj podanego substratu na poziom jego metabolitów w pobranym materiale, co pośrednio umożliwi ocenę aktywności interesującego nas enzymu w guzach nowotworowych.

Zwierzęta, które nie zostaną przypisane do grup eksperymentalnych, otrzymają kilka dożołądkowych dawek rozpuszczalników lub związku będącego inhibitorem interesującego enzymu. Związek zostanie wybrany na podstawie wcześniej uzyskanych wyników badań *in vitro* (np. stabilność, specyficzność). Pozwoli to, bez konieczności użycia dodatkowych zwierząt, zbadać właściwości farmakodynamiczne związku po jego kilkukrotnym podaniu.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Całkowita liczba zwierząt planowanych do użycia w planowanym badaniu pilotażowym to 55 samiec myszy ze szczepu NOD/SCID.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Rozwój nowych terapii przeciwnowotworowych wymaga na pewnym etapie użycia organizmów żywych do badań. Wyniki badań *in vitro* pozwalają opracować związki specyficzne, aktywne i stabilne oraz opracować procedurę badań *in vivo*. Dopiero po przejściu przez te etapy, zaplanowano badanie *in vivo* objęte poniższym wnioskiem. Przed przygotowaniem wniosku wykonano przegląd literatury na temat wybranego (niejawnego) celu terapeutycznego w ogólnodostępnych bazach danych, a samo badanie zaprojektowano z zastosowaniem zasad 3R.

ZASTĄPIENIE: Przed przystąpieniem do planowanego badania, wykorzystano modele *in silico* (użycie modeli komputerowych do produkcji leków) oraz *in vitro* (wybór substratów i inhibitora do badań *in vivo* na podstawie wyników badań w modelach komórkowych).

OGRANICZENIE: Liczba zwierząt potrzebnych do przeprowadzenia pilotażowego badania *in vivo* została ustalona na wysokości minimalnej próby, dla której można określić zmienność mierzoną odchyleniem standardowym (tj. 3 osobniki). Przewidując jednak, na podstawie wyników licznych badań w modelu ksenograftu, zmienność osobniczą, i założono potrzebę użycia jednej myszy więcej na pojedynczy punkt pobrania materiału. Dodatkowo, przy określeniu liczby potrzebnych zwierząt, korzystano z wyników badań w modelu ksenograftu z użyciem konkretnej linii nowotworowej, jakie były już przeprowadzone w przeszłości. Tak więc wielkość grupy badanej w badaniu pilotażowym została ograniczona do minimum, jednak bez negatywnego wpływu na wiarygodność otrzymanych

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

wyników. Zwierzęta które nie wejdą do doświadczenia głównego, posłużą do opracowania właściwości farmakodynamicznych wybranego inhibitora enzymu należącego do interesującego nas szlaku metabolicznego.

UDOSKONALENIE: Zwierzęta użyte do doświadczeń będą pochodzić z certyfikowanych źródeł i będą utrzymywane w warunkach wzbogaconego środowiska, co przyczyni się do poprawy ich dobrostanu, a także pozwoli na utrzymanie zachowań typowych dla gatunku. W trakcie trwania całego eksperymentu będą pod stałą opieką weterynaryjną, a wszystkie czynności wykonywane w ramach poszczególnych procedur zostaną wykonywane przez wykwalifikowane i doświadczone osoby. Pozwoli to na przeprowadzenie badań z ograniczeniem do minimum bólu oraz stresu zwierząt. W przypadku, kiedy u zwierząt zostaną zaobserwowane objawy bólu, czy cierpienia procedura zostanie zakończona, a zwierzęta poddane zostaną eutanazji.

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.