

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Zbadanie aktywności przeciwnowotworowej nowych związków działających w obrębie telomerów**
2. Czas trwania projektu 01.02.2019-31.12.2021
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) anticancer agent, DNA binding, shelterin, telomere, TRF1, TRF2, telomeric DNA
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.

Celem projektu jest opracowanie nowych związków przeciwnowotworowych działających w obrębie telomerów. Telomery są końcami chromosomów liniowych, a ich znaczenie dla ludzkiego zdrowia podkreśla przyznana w 2009 r. Nagroda Nobla w dziedzinie fizjologii lub medycyny przyznana Elizabeth Blackburn, Jackowi Szostakowi i Carol Grieder za ich pracę nad biologią telomerów. Grupa białek oddziałujących z telomerycznym DNA nazywa się kompleksem szelterinowym i obejmuje między innymi tzw. białka TRF. Telomery skracają się z każdym kolejnym podziałem komórek w prawidłowych komórkach ludzkich, podczas gdy w nowotworach są one w sposób ciągły wydłużane przez ludzką odwrotną transkryptazę telomerazy (hTERT). Telomerazy ulegają nadmiernej ekspresji w 80-95% przypadków raka, natomiast są obecne na bardzo niskim poziomie lub są niewykrywalne w normalnych komórkach, stąd zaliczane są do cech charakterystycznych nowotworów. Ponieważ telomeraza odgrywa kluczową rolę w podtrzymywaniu ciągłych podziałów komórek rakowych, może zatem służyć jako idealny cel dla leków przeciwnowotworowych. Hamowanie telomerazy może prowadzić do zmniejszenia długości telomerów, prowadzącej w efekcie do starzenia się komórek i apoptozy w nowotworach wykazujących jej ekspresję. Jedną ze strategii hamowania aktywności telomerazy jest blokowanie oddziaływania białek TRF z DNA telomerów. W tej strategii wykorzystaliśmy już znany przeciwnowotworowy związek czynny C1305 (pochodna triazoloakrydonu), zapobiegający wiązaniu się białek TRF do telomerowego DNA, jako wzorzec do opracowania nowych pochodnych opartych na rusztowaniu triazoloakrydynowym. Opracowane zostały nowe związki chemiczne wykazujące podobne, lub lepsze właściwości niż C1305. Związki te zostały poddane szeregowi badań *in vitro* i wyselekcjonowano dwa z nich do dalszych badań. Dalsze badania, planowane w niniejszym wniosku polegać będą na wyznaczeniu dawki maksymalnie tolerowanej w oparciu o wyniki toksykologiczne dostępne dla

związku C1305 (procedura 1). Następnie zbadana zostanie aktywność przeciwnowotworowa tych związków w modelu ludzkiego raka okrężnicy (procedura 2 i 3).

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

106 myszy domowych (BALB/c i SCID lub nude)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy poddano analizie dane literaturowe, wykorzystując bazy danych: __PUBMED; __ScienceDirect; __Web of Science (JCR) (wykorzystane słowa kluczowe: anticancer agent, DNA binding, shelterin, telomere, TRF1, TRF2, telomeric DNA), stwierdzając, iż zaproponowane w projekcie podejście do blokowania aktywności telomerazy nie zostało dotąd zbadane. Badania biologii telomerów prowadzone są w nie więcej niż kilkunastu laboratoriach na świecie. Badania nad inhibitorami telomerazy przeprowadzono szeroko w wielu laboratoriach, ale bez spektakularnych sukcesów (głównie z powodu braku podejścia wspomaganego komputerowo). Jednak, zgodnie z naszą najlepszą wiedzą, badania nad białkami telomerowymi jako potencjalnymi celami terapii przeciwnowotworowej to wyjątkowa strategia realizowana tylko przez nas. Opierając się na badaniach od wielu lat związku C1305, wykazującym interesującą aktywność wobec białek związanych z telomerami, zsyntezowano i poddano wielokierunkowym analizom in vitro jego nowe analogi. Na tej podstawie wybrano 2 związki o najbardziej obiecującym profilu aktywności z przewagą ukierunkowania wobec komórek raka okrężnicy. Selekcja związków na podstawie szerokiego panelu badań in vitro pozwala ograniczyć liczbę zwierząt wykorzystywanych w badaniach. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że otrzymane nowe pochodne wykazują wysoki potencjał dla zastosowania ich jako eksperymentalnych związków o działaniu przeciwnowotworowym. Brak jest danych dotyczących zastosowania tych pochodnych w eksperymentalnej terapii. Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na: rozwinięcie poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku potencjału tego typu strategii w terapii onkologicznej. Wyniki naszych dotychczasowych doświadczeń in vivo oraz stosowane metody statystyczne pozwalają stwierdzić, że przewidziane minimalne liczebności zwierząt przypadających na każdą grupę są wystarczające do wiarygodnego oszacowania skuteczności stosowanej terapii (zasada ograniczenia i udoskonalenia). Bazując na danych uzyskanych z przeprowadzonych badań, można będzie dokonać wiarygodnej oceny skuteczności inhibitorów telomerazy. W planowanych doświadczeniach, oprócz zaszczepienia komórek nowotworowych i podawania preparatów, monitorowany będzie wzrost guzów, angiogeneza i kondycja zwierząt, bez konieczności przyżyciowego pobierania próbek. Na zakończenie eksperymentu, przewidziano małoinwazyjne pobranie materiału do dalszych badań (zasada udoskonalenia). Myszy wykorzystywane do zaplanowanych doświadczeń utrzymywane będą w warunkach zapewniających dobrostan zwierząt. Badania będą prowadzone przez doświadczonych osoby, co pozwoli na przeprowadzenie badań w ograniczonym do minimum stresie czy bólu (zasada udoskonalenia). Zaplanowane procedury zaprojektowano tak, by ograniczyć ból, cierpienie i dystres wykorzystywanych zwierząt. W przypadku zaobserwowania znacznego pogorszenia stanu zdrowia zwierząt zostanie zastosowane wczesne, humanitarne zakończenie procedury. Także myszy z wyraźnym guzem nowotworowym (powyżej 2000 mm³) 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

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

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