

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1.Tytuł projektu: OCENA INNOWACYJNEJ GLIKOKONIUGATOWEJ POCHODNEJ METOTREKSATU I GLUKOZY W MYSIM MODELU RAKA GRUCZOŁU SUTKOWEGO

2.Czas trwania projektu 31.07.2018-31.12.2018r.

3.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): glucose, conjugat, combination therapy, allograft models, methotrexate.

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.

Powszechnie znaną właściwością komórek nowotworowych jest zwiększone zużycie glukozy i nasilenie procesów glikolizy aerobowej. Zjawisko to, znane jako efekt Warburga, doprowadziło do opracowania technik obrazowania, takich jak badanie PET, opierające się na radioznakowanym analogu glukozy. Szerokie zastosowanie kliniczne 2-deoksy-2-fluoro-D-glukozy w wykrywaniu tkanek nowotworowych wiąże się z dużym zainteresowaniem tym szczególnym zjawiskiem. Dołączenie cytotoksycznego "ładunku" do glukozy w celu utworzenia glikokoniugatu zapewnia mechanizm selektywnego dostarczania czynnika cytotoksycznego do komórek nowotworowych poprzez nadekspresjonowane transportery

glukozy (GLUT). Projekt badawczy ma na celu weryfikację skuteczności innowacyjnej terapii termodynamicznej polegającej na wykorzystaniu unikatowej pochodnej glukozy enkapsulowanej w liposomach wrażliwych na temperaturę (*TSL- temperature sensitive liposomes*). Kompleks ten jest wysoce stabilny i neutralny dla komórek w fizjologicznej temperaturze ciała. Jednak enkapsulowany glikokoniugat jest szybko uwalniany w warunkach hipertermii - 40-43 °C. Jednoczesne zastosowanie technologii hipertermii i TSL umożliwia celowaną i wysoce selektywną podaż leku.

Nowotwór piersi jest jedną z głównych przyczyn zgonów wśród kobiet na świecie. Jednym z najgorzej rokujących subtypów jest nowotwór piersi niewykazujący ekspresji genów dla receptora estrogenowego, progesteronowego oraz ludzkiego epidermalnego czynnika wzrostu tzw. (*ang. triple-negative breast cancer*, TNBC). Obecnie stosowane leki w chemioterapii u pacjentów z wyżej wymienionym subtypem nowotworu nie przynoszą satysfakcjonujących rezultatów w leczeniu pacjentów.

Badania przeprowadzone przez nasz zespół wykazały, iż zaprojektowane przez nas pochodne glukozy są niezwykle aktywnymi związkami, znajdującymi zastosowanie w leczeniu raka piersi i jelita grubego (Agrawal, Wozniak et al., Oncotarget December 2017). Badania molekularne wykazały, iż glikokoniugaty są selektywnie wychwytywane przez komórki i silnie hamują procesy metaboliczne nawet w bardzo niskich stężeniach. Zespół badawczy opracował innowacyjną pochodną glukozy i metotreksatu, która wykazała bardzo silne i swoiste działanie *in vitro*. Celem niniejszego projektu jest ocena skuteczności *in vivo* glukokoniugatu (glukoza + metotreksat (MTX)) oraz zamkniętego glukokoniugatu w termowrażliwe liposomy TLS (*ang. temperature sensitive liposomes*), których uwalnianie następuje z wykorzystaniem hipertermii na mysim modelu raka gruczołu sutkowego 4T1.

## 6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

79 myszy (samic) szczepu wsobnego BALB/c

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA<sup>1</sup>

Badania w modelach zwierzęcych są konieczne do przeprowadzenia w celu oszacowania wydajności hamowania wzrostu guzów nowotworowych przez glukokoniugat metotreksatu, czego żaden test in vitro nie jest w stanie zastąpić. Badania te będą prowadzone w oparciu o zasady 3R.

Na podstawie dostępnych baz danych: m.in. Web of Science, PubMed przy użyciu następujących słów kluczowych (glucose, conjugat, combination therapy, allograft models, methotrexate) potwierdzono, że Zespół badawczy jest pierwszym na świecie, który dokonał syntezy tej unikalnej cukrowej pochodnej metotreksatu. Badania in vitro wykazały, że związek wykazuje silne działanie cytotoksyczne i charakteryzuje się wysoką specyficznością względem komórek nowotworowych. Projekt zakłada rozwiązanie problemu układowej toksyczności związanej z zastosowaniem pochodnych glukozy poprzez wykorzystanie celowanej podaży związku dzięki zastosowaniu hipertermii i TSL. Technologia została zweryfikowana przez zespół badawczy in vitro.

Badania in vivo pozwolą na weryfikację wyników otrzymanych w badaniach in vitro. Zakłada się, że wyniki badań in vivo przyczynią się do opracowania nowych terapii nowotworów piersi.

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 preparatów oraz metody ich uzyskania.

W planowanych doświadczeniach typu allograft, oprócz zaszczepienia komórek nowotworowych i podawania preparatów, monitorowany będzie wyłącznie wzrost guzów 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 z ograniczonym do minimum stresem czy bólem (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 mm<sup>3</sup>) poddane zostaną eutanazji.

## 8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną<sup>2</sup>

☒ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy

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

☐ NIE

<sup>1</sup> Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

<sup>2</sup> Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.