

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Ocena narządowej dystrybucji znakowanych nanokapsuł polisacharydowych jako potencjalnych nośników leków lipofilowych o działaniu naczyniowym

2. Czas trwania projektu 18 miesięcy

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) nanokapsuły, biodystrybucja, naczynia krwionośne, śródbłonek

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.

Wiele substancji o istotnym znaczeniu biologicznym jest trudno rozpuszczalnych w roztworach wodnych (ma charakter lipofilowy), co znacząco ogranicza ich wykorzystanie jako terapeutyków. Jednym z rozwiązań umożliwiających zastosowanie tego typu związków w farmakologii jest zastosowanie biopolimerowych nośników w postaci nanokapsuł, które zapewnią bezpieczny transport leku do określonego miejsca docelowego w organizmie bez utraty jego funkcjonalności. Badania pilotażowe wykazały, że zamknięcie w nanokapsułach substancji biologicznie czynnej takiej jak kurkumina, wzmacnia jej efekt terapeutyczny, jednak mechanizm działania nie został jeszcze w pełni wyjaśniony.

Celem badania będzie ocena przydatności biopolimerowych nanokapsuł do transportu leków lipofilowych o działaniu naczyniowym, poprzez określenie ich narządowej dystrybucji. Hipoteza badawcza zakłada, że nanokapsuły utworzone ze modyfikowanych polisacharydów np. kwasu hialuronowego (wyścielających naturalnie wnętrza naczyń krwionośnych w postaci glikokaliksu) mogą być wychwytywane z krwiobiegu przez komórki śródbłónka naczyń krwionośnych, co umożliwiłoby ich wykorzystanie w terapiach celowanych m.in. chorób układu krążenia.

W badaniach planuje się wykorzystanie zarówno zwierząt zdrowych (kontrolnych) jak i modelu dysfunkcji śródbłónka (zwierzęta z nadciśnieniem tętniczym). Preparaty kontrolne oraz nanokapsuły zostaną podane zwierzętom dożołądkowo lub dożylnie. W określonych punktach czasowych od podania preparatów (1h, 3h, 8h lub 5 dni) od zwierząt zostaną pobrane tkanki (m.in. aorta wraz z łukiem, wątroba, płuca) w celu dalszego obrazowania ex vivo oraz analizy histologicznej. Określenie precyzyjnego miejsca lokalizowania się nanokapsuł w warunkach fizjologicznych będzie możliwe dzięki zastosowaniu znakowania nanokapsuł fluorem (obrazowanie NMR) oraz znaczników fluorescencyjnych.

Uzyskane wyniki pozwolą na określenie potencjału stosowania nanokapsuł jako nośników dla związków biologicznie czynnych, również tych o niskiej biodostępności, w nowoczesnej, celowanej terapii dysfunkcji śródbłónka.

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

Szczur wędrowny n=40

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

Przedmiot niniejszego wniosku ma charakter innowacyjny, nieopisany dotąd w literaturze i posiada duży potencjał aplikacyjny. Badania z wykorzystaniem modeli zwierzęcych są istotnym elementem badań przedklinicznych mających na celu opracowanie skutecznych metod terapeutycznych. Uzyskanie danych z niniejszego projektu może przyczynić się do opracowania nowej klasy nośników dla

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

zastosowań w terapii celowanej m.in. w leczeniu dysfunkcji śródbłónka naczyniowego towarzyszącej wielu schorzeniom, w tym nadciśnieniu.

Szczury są jednym z podstawowych gatunków zwierząt modelowych, powszechnie stosowanych w badaniach mechanizmów i odpowiedzi organizmu na aplikowane substancje bioaktywne o potencjale prozdrowotnym. Badania z wykorzystaniem modeli zwierzęcych stanowią istotny element badań przedklinicznych, których nie są w stanie zastąpić badania *in vitro*. Stopień skomplikowania procesów metabolicznych przebiegających w organizmie uniemożliwia wykonanie tego typu eksperymentów na liniach komórkowych i hodowlanych, które m.in. nie są w stanie uwzględnić komunikacji międzykomórkowej i międzyrzędowej. Aby ograniczyć stres i dyskomfort zwierząt związanych z pomiarami przyżyciowymi, liczbę i dotkliwość czynności ograniczono do niezbędnego minimum, planując w eksperymentach analizy *ex vivo* pobranych tkanek. Zaplanowana w procedurach liczba zwierząt zarówno w grupach kontrolnych jak i badanych została zredukowana do wartości minimalnej zapewniającej uzyskanie rzetelnych wyników

Dawki oraz objętości substancji aplikowanych zwierzętom zostały ustalone na podstawie danych literaturowych, co pozwala na obserwację efektów przy jednoczesnym braku skutków ubocznych. Masa ciała zwierząt będzie regularnie monitorowana, co umożliwi precyzyjne dawkowanie substancji.

Nanokapsuły otrzymywane są drogą bezpośredniej emulsyfikacji fazy wodnej zawierającej polisacharyd oraz fazy olejowej z rozpuszczoną substancją aktywną. Zastosowanie biopolimerów takich jak hialuronian, występujących naturalnie w przyrodzie, pozwala na uzyskanie nietoksycznego układu emulsyjnego. Układ taki nie zawiera także zanieczyszczeń, które mogłyby wywoływać negatywne efekty u badanych zwierząt. Dodatkową zaletą kapsuł jest ich dyspersja w bezpiecznym i neutralnym dla organizmu roztworze soli fizjologicznej lub innym roztworze wodnym. Zastosowanie PFOB do wyznakowania nanokapsuł fluorem wynika z faktu, że jest on używany klinicznie jako preparat krwiozastępczy, a tym samym ryzyko wystąpienia skutków ubocznych jest zminimalizowane. Znacznik fluorescencyjny zostanie dobrany spośród powszechnie stosowanych barwników w badaniach *in vitro*, gdzie nie stwierdza się ich działania toksycznego.

Czynności zaplanowane w doświadczeniu, według aktualnego stanu wiedzy, są możliwie najmniej dotkliwe dla zwierząt. W przypadku pojawienia się alternatywnych procedur (zadowalających pod względem naukowym) o mniejszej dotkliwości dla zwierząt, zastąpią one procedury zaplanowane w

badaniu, z zastrzeżeniem, że nie będzie to miało wpływu na jakość wyników.

W celu udoskonalenia warunków bytowych zwierząt podczas prowadzenia eksperymentu, oprócz zapewnienia podstawowych warunków temperatury i wilgotności odpowiednich dla ich gatunku, każda z klatek dla zwierząt zostanie uzupełniona o drewniane gryzaki do ścierania zębów oraz domki wypoczynkowe.

Rezultaty niniejszego projektu, oprócz aspektu poznawczego, mogą przyczynić się także do pracowania nowych strategii w prewencji i leczeniu patologii śródbłonna naczyniowego w nadciśnieniu tętniczym krwi.

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