

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu *Ocena skuteczności zastosowania nowego fotouczulacza M2TG3 w terapii chorób nowotworowych przy użyciu tomografii elektronowego rezonansu spinowego (EPR), metod optycznej wizualizacji (FLUOS-IVV i LLL-IVV) oraz tomografii komputerowej (TK)*

2. Czas trwania projektu 09.12.2019 do 08.12.2024

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) nowotwór, terapia, EPR, TK,

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.

Planowane doświadczenie ma na celu ocenę skuteczności zastosowania nowego fotouczulacza M2TG3, czyli substancji zwiększającej wrażliwość skóry na światło w terapii chorób nowotworowych (PDT). Metoda ta polega na wykorzystaniu nietoksycznych związków wrażliwych na światło, które po ekspozycji na specyficzny rodzaj światła działają toksycznie na komórki nowotworowe. Wykazano, że M2TG3 posiada niezwykle obiecujące właściwości przeciwnowotworowe w eksperymentach przeprowadzonych w warunkach *in vitro*. PDT to nowatorska, obarczona stosunkowo niewielkim ryzykiem wystąpienia efektów ubocznych, metoda leczenia nowotworów za pomocą 3 nieszkodliwych, (jeśli występują osobno) czynników: fotouczulacza, tlenu i światła. Naświetlenie komórek



nowotworowych (które wchłonęły fotouczulacz) światłem o długości fali zdolnej do jego wzbudzenia powoduje zapoczątkowanie reakcji, której wynikiem jest generowanie form tlenu, które są zdolne do reakcji (RFT) powodujących śmierć komórek.

Proponowane badania pozwolą na określenie działania przeciwnowotworowego nowego fotouczulacza M2TG3. Mogą się one zatem przyczynić do opracowania nowego sposobu leczenia chorób nowotworowych. Szkody jakie proponowane badania mogą wywołać u zwierząt to objawy wynikające z rozwoju nowotworu i towarzyszący temu dyskomfort, w tym objawy bólu takie jak wokalizacja, agresja, apatia, samookaleczenia, które jeśli zostaną stwierdzone to zwierzę zostanie poddane wcześniejszemu humanitarnemu uśmierceniu. Za szkodę należy również śmierć zwierzęcia. Poza tym zwierzę może odczuwać krótkotrwały dyskomfort związany z wczepieniem komórek.

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

Mysz Balb-c/Nude (CharlesRiver, USA) – 88 osobników

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

W dostępnym piśmiennictwie PubMed, MEDLINE, BioMed Central, Google Scholar, Scopus, EMBASE, ScienceDirect, Current Contents wykorzystując kilka różnych strategii wyszukiwania nie znaleziono informacji, których uzyskanie jest celem tego projektu (użyte słowa kluczowe: photodynamic therapy, electron paramagnetic resonance, luciferin-luciferase, luminescence, xenograft, in vivo visualisation).

### **Zasada zastąpienia**

Pomimo, że przy użyciu metod *in vitro* możliwe jest badanie interakcji związków chemicznych z procesami zachodzącymi w żywych komórkach na poziomie molekularnym, to analiza wzajemnych oddziaływań i zależności pomiędzy dziesiątkami typów komórek prawidłowych wchodzących w skład żywego organizmu a komórkami nowotworowymi oraz ocena procesów ADME (podania, dystrybucji, metabolizmu, wydalania) możliwa jest obecnie tylko w modelu zwierzęcym. Nie dysponujemy obecnie modelem, który mógłby odzwierciedlić

---

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



niezwykle skomplikowane zależności czynników modulujących rozwój procesu nowotworowego, dlatego nie jesteśmy w stanie stworzyć i zastosować do tego celu innych modeli niż model zwierzęcy.

Jednym z powszechnie używanych na świecie modeli w badaniach procesów nowotworowych na zwierzętach jest model mysich ksenograftów. Słowa kluczowe "cancer xenograft mice" przynoszą w serwisie Pubmed w roku 2012 2945 prac naukowych, w których zastosowano ten model, w roku 2013 3516, a w roku 2014 4227 publikacji. Model mysich ksenograftów umożliwia obserwację rozwoju ludzkiego guza nowotworowego w organizmie myszy z uwzględnieniem wszystkich aspektów dystrybucji badanego związku, które są niemożliwe do odtworzenia w warunkach hodowli komórkowych lub innych znanych obecnie modeli badawczych.

### **Zasada ograniczenia**

Liczba zwierząt wykorzystywanych w doświadczeniach została ograniczona do poziomu niezbędnego do uzyskania wyników wiarygodnych statystycznie. W proponowanych badaniach zamierza się wykorzystać myszy Balb/c-Nude, pozbawione limfocytów T i B. Wykorzystanie tego modelu eksperymentalnego pozwala na wszczepienie im ludzkich komórek nowotworowych. Przed wszczepieniem, w przypadku obrazowania luminescencyjnego (LLL-IV), komórki muszą zostać poddane stabilnej transfekcji plazmidem pcDNA 3.1 (zeo-) – Luc, niosącym gen lucyferazy (Luc) pod kontrolą promotora CMV. Pozwala to na wizualizację guza oraz ocenę żywotności komórek nowotworowych po podaniu myszom lucyferyny, która ulegając dystrybucji, jest transportowana również do transfekowanych komórek nowotworowych, posiadających lucyferazę.

Zastosowanie myszy Balb/c-Nude oraz nieinwazyjnych metod obrazowania pozwala na znaczne zredukowanie (4-8 krotne) liczby zwierząt w eksperymencie. W klasycznym eksperymencie bez użycia takich komórek, myszy immunoniekompetentnych oraz odpowiedniego, bardzo zaawansowanego technologicznie sprzętu, konieczne jest uśmiercenie grupy myszy w każdym etapie, punkcie czasowym doświadczenia. W modelu zaproponowanym przez wnioskodawcę może to być zastąpione wizualizacją komórek transfekowanych lucyferazą za pomocą kamery CCD i odpowiedniego oprogramowania komputerowego (obrazowanie LLL-IVV). Podobnie, stosowane jednocześnie przez wnioskodawcę obrazowanie FLUOS-IVV, CT czy EPR jest nieinwazyjne i nie wymaga eutanazji zwierząt po każdym dokonanym pomiarze.

### **Zasada udoskonalenia**

Prezentowany projekt opiera się na wykorzystaniu techniki wywoływania nowotworu minimalizującej dystres u zwierząt do ułucia igłą - techniki mysich ksenograftów, polegającej na wszczepieniu niewielkiej ilości komórek nowotworowych zawieszonych w soli fizjologicznej pod skórę zwierząt oraz szeregu technik nieinwazyjnego obrazowania, które nie wymagają przeprowadzenia eutanazji zwierząt po każdym dokonanym pomiarze. Ponadto w celu zmniejszenia stresu odczuwanego przez zwierzęta, wykonanie części czynności zaplanowano



przy użyciu znieczulenia. Myszy Balb/c-Nude będą utrzymywane w odpowiednich warunkach zapewniających dobrostan zwierząt (zakłada się ograniczenie do minimum niekorzystnych skutków oraz odczuć zwierząt w czasie procedury oraz utrzymywanie ich w jak najlepszych warunkach bytowych). Ponadto, zwierzęta będą obserwowane podczas całego eksperymentu przez lekarza weterynarii i zespół ds. dobrostanu zwierząt.

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.