

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Ocena skuteczności dootrzewnowej podaży karboplatyny zamkniętej w nano- i mikrosferach, w leczeniu raka jajnika. Badania na modelu mysim.

2. Czas trwania projektu: 15.06.2020 – 15.06.2023

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): rak jajnika, chemioterapia dootrzewnowa, system podaży leków, mucyna 1, mikrosfery

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.

Rak jajnika jest poważnym problemem epidemiologicznym. U ponad 70% pacjentek diagnozowany jest w momencie, gdy doszło już do rozsiewu, głównie wewnątrz otrzewnej. Leczenie polega na wykonaniu zabiegu chirurgicznego, który uzupełniana chemioterapią. Pomimo początkowej skuteczności terapii, u większości pacjentek w ciągu pierwszych 5 lat dochodzi do nawrotu choroby, co spowodowane jest obecnością minimalnej choroby resztkowej w obrębie jamy otrzewnej. Poszukuje się metod pozwalających na bardziej skuteczne działanie chemioterapeutyku, zwłaszcza w stosunku do mikroognisk przerzutowych w otrzewnej. Jedną z form podawania cytostatyków jest chemioterapia dootrzewnowa polegająca na dostarczeniu leku bezpośrednio w okolice mikroognisk i lepszą jego penetrację w głąb nacieku. Jednak terapia ta nie jest pozbawiona efektów ubocznych. Największym problemem związanym z podażą dootrzewnową są powikłania ze strony układu pokarmowego oraz związane z obecnością cewnika w otrzewnej.

Celem badania jest opracowanie sposobu podaży leku, który pozwoli na bardziej skuteczną chemioterapię dootrzewnową. Badanie będzie przeprowadzone na modelu mysim. Zwierzętom w



postaci iniekcji dootrzewnowej zostanie podany lek przeciwnowotworowy (karboplatyna) zamknięta w nano- i mikrokapsułkach. Nano- i mikrokapsułki zostaną pokryte organicznym związkem chemicznym – chitozanem, aby zwiększyć siłę ich połączenia z ogniskiem przerzutowym. Dzięki temu karboplatyna po przyłączeniu do ogniska przerzutowego może zostać uwolniona w bezpośrednim sąsiedztwie komórek nowotworowych. Za pomocą takiej metody niekorzystne działanie chemioterapeutyku na niezajętą naciekiem nowotworowym powierzchnię otrzewnej byłoby ograniczone a co za tym idzie, bezpieczniejsze. U 108 myszy zostanie wywołany rak jajnika, poprzez dootrzewnowe podanie linii komórek nowotworowych. Po 6-8 tygodnia od wszczepienia komórek nowotworowych od zwierząt zostanie pobrana krew w celu oznaczenia poziomu markera nowotworowego CA125. Po stwierdzeniu u myszy wartości markera CA125 powyżej 35 IU/ml świadczącej o rozwoju raka jajnika, zwierzętom dootrzewnowo podany zostanie płyn fizjologiczny (grupa porównawcza) oraz karboplatyna zamknięta w mikrokapsułkach (grupa 2) i nanokapsułkach (grupa 3) oraz karboplatyna wolna (grupa 4). Po 2, 6, 12, 24, 48 i 72 godzinach, a także 7, 10 i 14 dniach od podania płynu fizjologicznego lub chemioterapeutyku od zwierząt będą uśmiercane. Od zwierząt pobierana będzie krew oraz tkanki i narządy w celu pozyskania materiału do analiz histopatologicznych i immunocytochemicznych.

Opracowana metoda podawania chemioterapeutyku mogłaby znaleźć zastosowanie w leczeniu zarówno raków pierwotnych otrzewnej, jak i u pacjentek z rakiem jajnika, u których po operacji cytoredukcyjnej pozostaje choroba resztkowa.

Przewidywane szkody podczas planowanego doświadczenia mogą wiązać się z dystresem zwierząt podczas podawania komórek nowotworowych, pobierania krwi oraz podawania chemioterapii (nakłucie). Szkodą dla zwierząt będzie uśmiercenie zwierząt na końcu doświadczenia. Procedury zostały zaplanowane w oparciu o zasadę 3R, które zmniejszają prawdopodobieństwo wystąpienia szkód u zwierząt doświadczalnych.

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

Mysz domowa (*Mus musculus*) szczep Crl:NU(NCr)-Foxn1<sup>nu</sup> (nude), 108 osobników, samice

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

Przygotowując projekt doświadczenia sprawdziłam istniejącą literaturę w zakresie objętym wnioskiem projektowym w bibliograficznych bazach danych, tj. PubMed, Web of Science i EBSCO.

Wykorzystałam słowa kluczowe: ovarian cancer, intraperitoneal chemotherapy, drug delivery system, MUC1, chitosan, nanoparticles, microparticles. Projekt doświadczenia był także omawiany w ramach konsultacji specjalistycznej z samodzielnymi pracownikami naukowymi Zakładu Patologii Ogólnej, Kliniki Ginekologii Operacyjnej i Onkologii Ginekologicznej Dorosłych i Dziewcząt Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie oraz Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w celu dokonania merytorycznej oceny oraz zasadności projektowanego protokołu badań.

Projekt doświadczenia został zaplanowany w oparciu o zasadę 3R.

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



**Zastąpienie** (ang. *Replacement*): W celu określenia skuteczności adhezji mikro- i nanosfer do ognisk nacieku nowotworowego w otrzewnej, przeprowadzono badania *in vitro* na liniach komórkowych SK-OV-3. Nano- i mikrosfery zostały połączone z barwnikiem fluorescencyjnym Alexa, umożliwiając ocenę adhezji pomiędzy systemami podaży leku a linią komórkową. Jednakże uzyskane wyniki wymagają dalszego, potwierdzenia na poziomie całego organizmu. Do tej pory nie opracowano modelu *in vitro*, który pozwoliłby odtworzyć złożone regulacje na poziomie organizmu. Analiza wzajemnych oddziaływań i zależności pomiędzy różnymi typami komórek prawidłowych wchodzących w skład żywego organizmu, a komórkami nowotworowymi możliwa jest obecnie tylko w modelu zwierzęcym. Ponadto myślenie o modelu 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 modelach badawczych.

**Ograniczenie** (ang. *Reduction*): Aby zminimalizować współczynnik zmienności do badań zostaną wykorzystane zwierzęta w tym samym wieku oraz o zbliżonej masie ciała. Zaplanowano wykorzystanie optymalnej liczby zwierząt – 27 osobników w grupie, w tym trzy osobniki w punktach czasowych. Stanowi to minimalną liczbę zwierząt w grupach potrzebną do prawidłowej oceny statystycznej otrzymanych wyników biorąc pod uwagę średnią i odchylenie standardowe prób. W celu zastosowania zasady ograniczenia tkanki i narządy pobrane od zwierząt będą wykorzystane do innych badań.

**Udoskonalenie** (ang. *Refinement*): W badaniach do podania podskórnego zwierzętom komórek nowotworowych zostaną zastosowane najcieńsze możliwe igły (insulinówki), co pozwoli na zmniejszenie dystresu.

Jako chemioterapeutyk w doświadczeniu wybrano karboplatinę, ponieważ jest cytostatykiem dobrze tolerowanym i nie powinien powodować działań nieporządných, w przeciwieństwie do cisplatyny. W badaniach cytostatyk do ustroju będzie podawany w postaci chemioterapii dootrzewnowej, a nie w postaci chemioterapii perfuzyjnej dodotrzewnowej, która jest zabiegiem o wiele bardziej inwazyjnym. Procedury będą przeprowadzane w sposób humanitarny i zastosowane będą metody ograniczające do minimum albo eliminujące ból i stres. To pozwoli uniknąć lub zmniejszyć negatywne reakcje zwierząt (dystres, duży niepokój).

Przez cały okres trwania eksperymentu prowadzona będzie dokumentacja przebiegu doświadczenia. Wykonywana będzie dokumentacja fotograficzna oraz opisywany będzie wygląd i zachowanie zwierząt. Podczas całego eksperymentu zwierzętom zapewniony będzie najlepszy standard życia.

#### 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.