

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1.Tytuł projektu Aktywność metaboliczna guzów nowotworowych w szczurzym modelu kostniakomięsaka

2.Czas trwania projektu . 15.01.2020-31.12.2024

3.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): osteosarcoma, TP53, obrazowanie molekularne, DNP, MRI

4.Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) **B**

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.

Kostniakomięsak jest najczęściej występującym nowotworem złośliwym kości, a jego występowanie wiąże się z niekorzystnym rokowaniem. Większość przypadków kostniakomięsaka jest diagnozowana za pomocą metod obrazowych z powodu zgłaszanego przez pacjenta bólu lub przypadkowo – przy okazji badań diagnostycznych wykonywanych z innego powodu. Tomografia komputerowa umożliwia określenie rozmiaru guza pierwotnego oraz wykrywanie przerzutów, ale słabo uwidacznia naciekanie guzów na tkanki miękkie. Obrazowanie metaboliczne za pomocą pozytonowej tomografii emisyjnej (PET) pozwala na wykrywanie zarówno guzów pierwotnych jak i ognisk przerzutowych, ale charakteryzuje się szeregiem ograniczeń (niska rozdzielczość, trudności z obrazowaniem guzów w niektórych lokalizacjach). Dodatkowych informacji może dostarczyć obrazowanie techniką rezonansu

magnetycznego (MRI), w szczególności z zastosowaniem środków kontrastowych i znaczników molekularnych. Znaczniki MR oparte na znakowanym izotopowo węglu ^{13}C pozwalają na przyżyciową ocenę statusu metabolicznego tkanki, a zastosowanie technik pozwalających na zwiększenie polaryzacji (hiperpolarizacja techniką DNP) w podawanej zwierzętom doświadczalnym lub pacjentom porcji znacznika pozwala na zwiększenie sygnału w sposób wystarczający do obrazowania ^{13}C MRI.

Pomimo obiecujących rezultatów wykorzystania tej metody do badania raków (nowotworów złośliwych wywodzących się z tkanki nabłonkowej), techniki tej do tej pory nie wykorzystywano badania mięsaków.

Celem projektu jest opracowanie przyżyciowej, możliwej do wprowadzenia do zastosowań klinicznych techniki obrazowania metabolicznego w kostniakomięsakach, oraz zbadaniu statusu metabolicznego kostniakomięsaków w dwóch modelach zwierzęcych tej choroby.

Badania zostały zaplanowane zgodnie z zasadami 3R w celu ograniczenia ich potencjalnego niekorzystnego wpływu na dobrostan zwierząt.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Szczur wędrowny (*Rattus norvegicus*) – 40 osobników

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych:

PUBMED; Google Scholar;

Wykorzystano słowa kluczowe: hyperpolarization, DNP, ^{13}C -pyruvate, sarcoma, osteosarcoma, TP53,

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

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzam, że:

Kostniakomięsak jest najczęściej występującym nowotworem złośliwym kości, a jego występowanie wiąże się z niekorzystnym rokowaniem. Ta często śmiertelna choroba rozwija się najczęściej u dzieci i młodych dorosłych – pomiędzy 10 a 30 rokiem życia. W przypadku zlokalizowanego guza pięcioletni okres przeżycia wynosi 70-75%, ale jeśli dochodzi do wystąpienia przerzutów średni okres przeżycia skraca się do zaledwie 30% [Lugowska et al. 2017, Casali et al. 2018, Fiedorowicz et al. 2018].

Większość przypadków kostniakomięsaka jest diagnozowana za pomocą metod obrazowych z powodu zgłaszanego przez pacjenta bólu lub przypadkowo – przy okazji badań diagnostycznych wykonywanych z innego powodu. Pierwszą modalnością obrazową w procesie diagnostycznym jest zazwyczaj obrazowanie rentgenowskie, a następnie wykonywana jest tomografia komputerowa (TK). TK umożliwia określenie rozmiaru guza pierwotnego oraz wykrywanie przerzutów, ale słabo uwidacznia naciekanie guzów na tkanki miękkie. Obrazowanie metaboliczne za pomocą pozytonowej tomografii emisyjnej (PET) pozwala na wykrywanie zarówno guzów pierwotnych jak i ognisk przerzutowych [Zhang et al. 2018], ale charakteryzuje się szeregiem ograniczeń takich jak niska rozdzielczość, narażenie na promieniowanie jonizujące, trudności z obrazowaniem guzów w niektórych lokalizacjach. Dodatkowych informacji może dostarczyć obrazowanie techniką rezonansu magnetycznego (MRI), m.in. dotyczących naciekania guza na tkanki miękkie, jego unaczynienia, mikrostruktury [Casali et al. 2018]. MRI dostarcza danych o wysokiej rozdzielczości przestrzennej bez narażania pacjenta na promieniowanie jonizujące. Dodatkowe możliwości diagnostyczne i badawcze są związane z zastosowaniem różnorodnych środków kontrastowych i znaczników molekularnych. Znaczniki oparte na znakowanym izotopowo węgla ^{13}C pozwalają na przyżyciową ocenę statusu metabolicznego tkanki, a zastosowanie technik pozwalających na zwiększenie polaryzacji (hiperpolaryzacja techniką DNP) w podawanej zwierzętom lub pacjentom porcji znacznika pozwala na zwiększenie sygnału w sposób wystarczający do obrazowania ^{13}C MRI [Kurhanewicz et al. 2019]. Obecnie, najbardziej zaawansowane są prace nad hiperpolaryzowanym 1- ^{13}C -pirogronianem, który jest m.in. rozwijany jako

znacznik do wykorzystania w diagnostyce raka prostaty [Nelson et al. 2013].

Techniki tej do tej pory niemal nie wykorzystywano do obrazowania i różnicowania mięsaków. Jedyna praca [Hansen et al. 2018] opisująca wyniki uzyskane na niewielkiej grupie psów-pacjentów z różnymi typami mięsaków i raków sugeruje, że technika ta może efektywnie różnicować mięsaki od zdrowej tkanki. Nie odnaleziono natomiast żadnych prac, w których wykonywano obrazowanie metaboliczne z wykorzystaniem hiperpolaryzowanych znaczników molekularnych w modelach zwierzęcych mięsaków.

Planowane eksperymenty będą polegały opracowaniu przyżyciowej, możliwej do wprowadzenia do zastosowań klinicznych techniki obrazowania metabolicznego w kostniakomięsakach, oraz zbadaniu statusu metabolicznego kostniakomięsaków w dwóch modelach zwierzęcych tej choroby. Nie jest możliwe odtworzenie w modelu *in vitro* procesów nowotworzenia w kostniakomięsakach.

Wobec braku metod alternatywnych z wykorzystaniem układów nie-zwierzęcych w doświadczeniu zaplanowano wykorzystanie minimalnej liczby zwierząt (*reduction*), która zapewni osiągnięcie celu badawczego i statystycznego. Doświadczenia zostały również zaplanowane w taki sposób, aby maksymalnie ograniczyć inwazyjność stosowanych procedur (*refinement*):

Replacement – Zastąpienie:

Nie jest możliwe w odtworzenie w modelu *in vitro* wszystkich procesów mogących decydować o bezpieczeństwie i efektywności proponowanej terapii.

Reduction - Ograniczenie:

Wobec braku metod alternatywnych z wykorzystaniem układów nie-zwierzęcych w doświadczeniu zaplanowano wykorzystanie minimalnej liczby zwierząt (*reduction*), która zapewni osiągnięcie celu badawczego i statystycznego. Minimalna liczba zwierząt została określona przy pomocy zaawansowanych narzędzi statystycznych. Oszacowana na tej podstawie liczba zwierząt w grupie powinna wystarczyć do uzyskania statystycznie istotnych wyników i pozwolić na weryfikację postawionych hipotez badawczych. Zastosowanie przyżyciowych metod oceny wielkości guza także

pozwoili na ograniczenie liczby punktów czasowych i w konsekwencji liczby zwierząt doświadczalnych niezbędnych do wykorzystania w doświadczeniach.

Refinement - Udoskonalenie:

Doświadczenia zaplanowano z zastosowaniem metod, które pozwalają na uzyskanie wysokiej jakości wyników przy jednoczesnym ograniczeniu dyskomfortu dla zwierząt, w szczególności zaawansowanych nieinwazyjnych lub mało inwazyjnych technik obrazowych. Precyzyjne monitorowanie guzów przy pomocy nieinwazyjnych metod obrazowych pozwoli na bardziej precyzyjne humanitarne punktu końcowego i ograniczenie dystresu. Zwierzęta będą przebywać w klatkach po 2 osobniki, środowisko bytowania zwierząt wzbogacone będzie o drewniane gryzaki osikowe oraz rurki tekturowe. Zwierzęta poddane będą okresowi adaptacji do nowego otoczenia, a w czasie eksperymentu będą przebywały w otoczeniu, które zminimalizuje ich stres.

Literatura:

Casali, P.G., et al., Bone sarcomas: ESMO-PaedCan-EURACAN Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol, 2018. 29(Supplement_4): p. iv79-iv95.

Fiedorowicz, M., et al., Molecular biology of sarcoma. Oncol. Clin. Pract., 2018. 14(6): p. 307-330.

Hansen AE, Gutte H, Holst P, et al. Combined hyperpolarized (13)C-pyruvate MRS and (18)F-FDG PET (hyperPET) estimates of glycolysis in canine cancer patients. European journal of radiology. 2018;103:6-12.

Kurhanewicz J, Vigneron DB, Ardenkjaer-Larsen JH, et al. Hyperpolarized (13)C MRI: Path to Clinical Translation in Oncology. Neoplasia. 2019;21:1-16.

Lugowska, I., et al., [The long-term treatment outcomes of adult osteosarcoma]. Pol Merkur Lekarski, 2017. 42(250): p. 158-164.

Nelson SJ, Kurhanewicz J, Vigneron DB, et al. Metabolic Imaging of Patients with Prostate Cancer Using Hyperpolarized [1-¹³C]Pyruvate. Science Translational Medicine. 2013;5:198ra08-ra08.

Zhang X, Guan Z. PET/CT in the diagnosis and prognosis of osteosarcoma. Front Biosci (Landmark Ed). 2018;23:2157-65.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- ☐ NIE

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