

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu:

Ocena wpływu amitryptyliny na efekty standardowej terapii stosowanej w glejaku wielopostaciowym

2. Czas trwania projektu: **1 rok 7 miesięcy**

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): **glioblastoma multiforme, amitryptylina, in vivo**

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

A. Badania podstawowe

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.

Obecny schemat terapii glejaka wielopostaciowego oparty jest na resekcji chirurgicznej, radioterapii i farmakoterapii obejmującej lek alkilujący – temozolomid. Z uwagi jednak na liczne skutki uboczne leczenia podstawowego, jak i sam przebieg choroby związany z: bólem, obrzękiem, naciekaniem struktur istotnych życiowo, zaburzeniami depresyjnymi i kognitywnymi, konieczne jest włączenie terapii uzupełniającej, w której istotne miejsce zajmują lek przeciwdepresyjne, w tym amitryptylina.

Celem niniejszych badań będzie ocena wpływu amitryptyliny i/lub temozolomidu podawanych przez sondę dożołądkową na: (1) wybrane cechy złośliwości komórek linii C6 glejaka wielopostaciowego (tempo wzrostu guza, proliferacja, działanie proapoptotyczne indukowane przez temozolomid) i (2)

wybrane parametry immunologiczne krwi obwodowej (limfocyty T, B, NK). Innowacyjny charakter przedstawionego projektu polega na przeprowadzeniu badań na szczurach szczepu Wistar, którym zostaną wszczepione podskórnice komórki syngenicznej linii C6 napromieniowanej (lub nie) promieniowaniem jonizującym. Taki schemat eksperymentalny odzwierciedla schemat postępowania stosowany w klinice.

Z przeglądu bazy PubMed wynika, że zaproponowany w niniejszym projekcie model doświadczalny oraz problem badawczy, nie był do tej pory analizowany eksperymentalnie. Nie ma do tej pory żadnych opublikowanych badań *in vivo* poświęconych wpływowi amitryptyliny (zarówno podanej jako jeden lek jak i w połączeniu z cytostatykiem) na komórki glejaka inokulowanego podskórnice, czy też domózgowo.

Wcześniej przeprowadzone przez nasz zespół badania w modelu *in vitro* (Bielecka i Obuchowicz, *Cancer Chem Ther.* 2017; Bielecka-Wajdman i wsp., *Cancer Control*, 2018) nie dały odpowiedzi na wszystkie pytania dotyczące wpływu temozolomidu i wybranych leków przeciwdepresyjnych na złośliwy fenotyp glejaka wielopostaciowego (badania przeprowadzane na komercyjnej, ludzkiej linii T98G) ich wyniki zainspirowały do przeprowadzenia badania w modelu *in vivo*.

W przedstawionym projekcie napromieniowane wcześniej jednorazowo promieniowaniem jonizującym komórki linii C6 będą inokulowane podskórnice w prawy bok szczura (n=32; 2 miesięczne samce szczepu Wistar) pozostałym szczurom (n=32) wszczepione zostaną komórki nienapromieniowane. 22 dni po inokulacji w czasie których będzie monitorowany wzrost guza skanerem TM900, szczury podzielone zostaną na grupy, a następnie podawane będą sondą dożołądkową leki: temozolomid i/lub amitryptylina w dawce 10 mg/kg/dobę przez 13 dni. W tym czasie będzie dalej prowadzona ocena guza skanerem. Przed i po podaniu leków wykonana zostanie analiza subpopulacji leukocytów z krwi obwodowej (krew pobrana z żyły ogonowej).

Gdy guz osiągnie 2.5 cm średnicy (około 35 dni po inokulacji) szczury zostaną uśmiercone i zostanie wykonana analiza histologiczna oraz immunohistochemiczna guza.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Gatunek: Szczur wędrowny (*Rattus norvegicus*)

Szczep: Wistar

Liczba szczurów w całym doświadczeniu: 64

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Ocena wpływu amitryptyliny i/lub temozolomidu podawanych sondą dożołądkową na: (1) wybrane cechy złośliwości komórek syngenicznej linii C6 glejaka wielopostaciowego, napromieniowanej (lub nie) i inokulowanej podskórnie szczurom szczepu Wistar oraz (2) wybrane parametry immunologiczne krwi obwodowej, jest niemożliwa do wykonania stosując metody *in vitro* (zgodnie z zasadą zastąpienia). Jedynie badania na zwierzętach doświadczalnych pozwalają na ocenę badanych zmian.

Planowane badania zostaną wykonane na 64 szczurach. Liczebność ta jest niezbędna do uzyskania znamienności statystycznej otrzymanych wyników badań (zasada ograniczenia). Użycie mniejszej liczby zwierząt powodowałoby ryzyko konieczności powtórzenia eksperymentu.

Proponowane badania zostały zaplanowane zgodnie z zasadą udoskonalenia. Szczury w trakcie doświadczenia będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku. Czynności (1, 2, 3) będą wykonywane na szczurach tak, by zminimalizować ryzyko odczuwania bólu fizycznego i cierpienia. Szczury będą pod opieką weterynaryjną, a w razie potrzeby przewidziano zastosowanie wcześniejszego, humanitarnego zakończenia procedury.

Jeżeli podczas obserwacji badacze zaobserwują cierpienie zwierząt procedura zostanie wcześniej zakończona.

Lista objawów będących podstawą decyzji o przedwczesnym uśmierceniu szczura (przed planowanym zakończeniem eksperymentu):

utrata masy ciała przekroczy 20% wartości wyjściowej lub jeśli zwierzęta nie będą przyjmowały pokarmu lub będą miały biegunkę przez ponad 48 godz

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

- ostry ból (np. wokalizacja przy ruchu, kulenie się, obrona przed dotknięciem, leżenie nietypowo-długotrwałe)
- zapalenie, infekcja (np. krwimocz, ropomocz, wydzielina z oczu i nosa, z dróg rodnych)
- uraz
- znaczące zaburzenia zachowania (np. samookaleczenia)

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.