

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu . Ocena skuteczności nanocząstek (glikodendrymerów) mających potencjalne zastosowanie w chorobach limfoproliferacyjnych z komórek B na dwóch modelach nowotworowych u myszy.

2. Czas trwania projektu 1.10.2016 – 31.07.2021

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) białaczka/chłoniak B komórkowy /nanocząsteczki/dendryмеры/PPI.

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) - A. Badania podstawowe

5. OPIS PLANOWANEGO DOŚWIADCZENIA

Celem zaplanowanych procedur jest ocena efektu działania, po podaniu drogą dożylną, nowych związków - glikodendrymerów polipropylenoiminowych (PPI) o potencjalnej aktywności chemioterapeutycznej. Wykorzystane zostaną dwa modele doświadczalne: myszy o obniżonej odporności, u których wykonana zostanie podskórna ksenotransplantacja komórek chłoniaka B komórkowego/PBL (komercyjna linia MEC-1) oraz myszy transgeniczne, u których wprowadzono ludzki gen TCL-1 skutkujący rozwojem silnej limfocytozy B i zmian analogicznych do stwierdzanych w przebiegu przewlekłej białaczki limfocytowej (CLL) u ludzi. Zaplanowane do projektu 2 związki w badaniach in vitro wykazały aktywność cytotoksyczną w stosunku do wybranych linii komórek przewlekłej białaczki limfocytowej, jako przedstawiciela limfoproliferacyjnych chorób z komórek B. Badania biochemiczne dotyczące mechanizmu działania związków potwierdzają potencjalną przydatność tych substancji i stanowią podstawę do rozpoczęcia badań doświadczalnych in vivo określających ich potencjalną biologiczną aktywność w organizmie żywym.

W pierwszym modelu doświadczalnym u zwierząt zostaną podane podskórnie przygotowane wcześniej komórki nowotworowe. Po 3 tygodniach od implantacji komórek zwierzęta zostaną przyporządkowane do jednej z grup otrzymujących substancje badane lub kontrolne. Substancje podawane będą 1 raz co 7 dni przez 4 kolejne tygodnie. Po podaniu substancji będą dokonywane obserwacje zwierząt pod kątem pojawienia się objawów niepożądanych, pomiary masy ciała i wielkości guza.

W drugim modelu doświadczalnym, począwszy od 6 m-ca życia, 1 raz w tygodniu, od każdego zwierzęcia, będzie pobierana przyżyciowo krew z żyły bocznej ogona w celu oznaczenia poziomu

leukocytów. W momencie stwierdzenia aktywnej leukemii (poziom limfocytów powyżej $20 \times 10^9/L$) rozpocznie się podawanie substancji. Substancje podawane będą 1 raz dziennie przez 5 kolejnych dni.

Po 14 dniach od zakończenia podawania substancji zwierzęta z obu grup eksperymentalnych zostaną poddane znieczuleniu ogólnemu po czym od każdego z nich zostanie terminalnie pobrana krew poprzez punkcję, a następnie po stwierdzeniu zgonu resekowane będą wybrane narządy wewnętrzne, które poddane będą dalszym analizom.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Obecnie jedynym zwierzęcym modelem wykorzystywanym w onkologii, transplantologii, biologii guzów, przeszczepach ksenogenicznych i badaniach nad przeszczepami jest implantacja komórek nowotworowych zwierzętom z upośledzonym układem odpornościowym. Standardowo do takiego eksperymentu wykorzystywane są myszy *nude* lub NOD/SCID. Ich wykorzystanie pozwala na przeszczep komórek ludzkiego nowotworu bez ryzyka odrzucenia a następnie na rozwój nowotworu. Ze względu na złożony proces rozwoju nowotworu i ewentualność odrzucenia przeszczepu nie ma obecnie możliwości zastąpienia go innym modelem.

Drugi model badawczy to model przewlekłej białaczki limfocytarnej oparty na myszach transgenicznym E μ -TCL1, u których spontanicznie, w wieku około 7-9 miesięcy rozwijają się objawy CLL analogiczne do tych występujących u ludzi.

Podana liczba zwierząt jest podyktowana: liczbą grup w badaniu i koniecznością zastosowania grup kontrolnych, zmiennością nasilenia objawów klinicznych skutkującą zmniejszeniem znamienności statystycznej oraz możliwymi upadkami w obu modelach wynikającymi z obniżonej odporności zwierząt oraz rozwojem silnej leukemii. W obu modelach badawczych planowane jest użycie łącznie 80 myszy NOD i 32 myszy transgenicznych. Jest to minimalna liczba zwierząt potrzebna do wykonania badań 'proof of concept' dla potencjalnego kandydata na lek.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam/sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych:

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

__EBSCO; __PUBMED; __Google Scholar; __AGRICOLA; __ScienceDirect; __Web of Science (JCR);

Wykorzystałam/em słowa kluczowe: białaczka/chłoniak B komórkowy /nanocząsteczki/ dendrymery/PPI

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że:

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że badania na zwierzętach glikodendrymerów PPI są w pełni uzasadnione jako „proof of concept” dla potencjalnych nowych leków - glikodendrymerów

B. Brak jest danych dotyczących takich badań na zwierzętach z użyciem glikodendrymerów PPI jakie my chcemy przeprowadzić, brak jest danych pokazujących skuteczność tych związków w żywym organizmie z ludzką białaczką/chłoniakiem B komórkowym.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

A/ Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku skuteczności badanych glikodendrymerów w leczeniu chorób limfoproliferacyjnych z limfocytów B

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy pozwoli na przeprowadzenie pełnych badań przedklinicznych na nowym kandydacie na lek. Ta wiedza i doświadczenie pomogą we wdrażaniu nowej substancji na rynek farmaceutyczny i będzie to polski produkt na arenie międzynarodowej.