

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu *Ocena skuteczności terapii skojarzonej opartej o kwasy merkapturowe, pochodne izotiocyanianów, i inhibitory polimeryzacji tubuliny w ortotopowym modelu nowotworów pęcherza moczowego – etap 1*

2. Czas trwania projektu 20.08.2020 - 31.12 2021

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): kwasy merkapturowe, inhibitory polimeryzacji tubuliny, nowotwory pęcherza moczowego, modele ortotopowe, terapia skojarzona

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.

Celem projektu jest opracowanie nowego schematu terapeutycznego dla zastosowań w leczeniu nowotworów pęcherza moczowego. Schemat oparty jest o kwasy merkapturowe, naturalne metabolity izotiocyanianów, które są składnikiem codziennej diety, oraz o związki takie jak winflunina czy kombrebastatyna, które klasyfikowane są jako inhibitory polimeryzacji tubuliny. Spodziewamy się, że nowo opracowywany schemat terapeutyczny pozwoli na znaczące podwyższenie aktywności przeciwnowotworowej inhibitorów polimeryzacji tubuliny przy jednoczesnym obniżeniu toksyczności schematu terapeutycznego.

Nowotwór pęcherza moczowego stanowi czwarty pod względem częstotliwości diagnozowania nowotwór u mężczyzn w Polsce. Niestety charakteryzuje go wysoka częstość nawrotów, wysokie ryzyko progresji oraz tworzenie przerzutów odległych. Co więcej, terapia obejmująca łączne zastosowanie chemio- i radioterapii nie zawsze jest skuteczna, a niepowodzenie terapii pierwszego rzutu prowadzi często do wystąpienia lekooporności wielolekowej. Wszystko to czyni z nowotworów pęcherza moczowego jedne z najdroższych w leczeniu.

Plan badań oparto o dotychczasowe piśmiennictwo, a przede wszystkim o wyniki badań przygotowawczych in vitro, w ramach których przetestowano 20 linii komórkowych nowotworów pęcherza moczowego (14 linii opornych), 6 różnych inhibitorów polimeryzacji tubuliny oraz 4 różne kwasy merkapturowe. Szeroki zakres badań pozwolił na wyselekcjonowanie najbardziej obiecujących schematów terapeutycznych i modeli badawczych, których skuteczność poddana zostanie ewaluacji in vivo. Niezaprzeczną dodatkową wartością badań jest zastosowanie ortotopowego modelu nowotworów pęcherza moczowego, w którym podanie zawiesiny komórkowej do ściany pęcherza moczowego odbywa się pod kontrolą USG.

Zaprojektowane badania in vivo obejmą w etapie 1 doprecyzowanie maksymalnych dawek tolerowanych dla planowanych schematów terapeutycznych. Równolegle przeprowadzona zostanie ocena tumorogenności wybranych linii komórkowych. Uzyskane w etapie 1 informacje wykorzystane zostaną do zaprojektowania badań w etapie 2 (eksperymentów terapeutycznych).

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

Planowany do wykorzystania gatunek zwierząt: mysz

Liczba zwierząt: 36 myszy szczepu Balb/c oraz 72 myszy szczepu Balb/c Nude.

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

Przeprowadzone przez nas szeroko zakrojone badania in vitro pozwoliły na wyselekcjonowanie najbardziej obiecujących kombinacji związków do testów in vivo. Badania te objęły selekcję kwasu merkapturowego z listy ponad 80 przedstawicieli grupy, selekcję cytostatyków spośród 6 różnych związków oraz selekcję 6 modeli doświadczalnych spośród 20 testowanych in vitro. (zasada ograniczenia)

Zaplanowany do użycia w eksperymentach ortotopowy model nowotworów pęcherza moczowego jest podejście dalece bardziej zaawansowanym, aniżeli zaszczepienia podskórne komórek nowotworowych. Niewątpliwym walorem jest tutaj możliwość obserwacji wzrostu tkanki nowotworowej w naturalnym obszarze jej powstawania w procesie chorobowym. Dodatkowo takie podejście pozwala na wykorzystanie i obserwowanie wpływu farmakokinetyki i jej aktywności biologicznej w konkretnym miejscu rozwoju nowotworu. Co więcej, dane literaturowe wskazują, że eksperymenty wykonywane z wykorzystaniem USG i szerokiego wachlarza metod obserwacji wzrostu guza jakie oferuje ta metoda (m.in. standardowe wizualizacje, wizualizacje 3D, badania przepływów i unaczynienia tkanek metodą Dopplera, ocena perfuzji tkanek z użyciem nietoksycznego znacznika), pozwalają na uzyskanie maksymalnej ilości wartościowych danych naukowych przy minimalnym dystresie dla zwierząt. Stałe monitorowanie parametrów życiowych zwierząt podczas wykonywania procedur (monitor oddechu i EKG) pozwalają odpowiednio wcześniej zaobserwować pogarszający się stan zdrowia zwierzęci i odpowiednio na ten fakt zareagować. Co więcej, modele ortotopowe tego typu cechuje możliwość istotnego zmniejszenia liczebności grup (w porównaniu do modelu podskórnych) niezbędnych dla

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

uzyskania wiarygodnych i naukowo wartościowych wyników. (zasady zastąpienia, ograniczenia i udoskonalenia)

Myszy wykorzystywane do zaplanowanych doświadczeń utrzymywane będą w warunkach zapewniających dobrostan zwierząt. Badania będą prowadzone przez doświadczonych osoby, co pozwoli na przeprowadzenie badań w ograniczonym do minimum stresie czy bólu. Zaplanowane procedury zaprojektowano tak, by ograniczyć ból, cierpienie i dystres wykorzystywanych zwierząt. W przypadku zaobserwowania znacznego pogorszenia stanu zdrowia zwierząt zostanie zastosowane wczesne, humanitarne zakończenie procedury. Także myszy z wyraźnym guzem nowotworowym (powyżej 350 $\mu$ L) poddane zostaną eutanazji. (zasady ograniczenia i udoskonalenia).

W planowanych doświadczeniach, oprócz zaszczepienia komórek nowotworowych i podawania preparatów, monitorowany będzie wzrost guzów i kondycja zwierząt, bez konieczności przyżyciowego pobierania próbek. Na zakończenie eksperymentu, przewidziano małoinwazyjne pobranie materiału do dalszych badań (zasada udoskonalenia).

W planowanych doświadczeniach, oprócz zaszczepienia komórek nowotworowych i podawania preparatów, monitorowany będzie wzrost guzów i kondycja zwierząt, bez konieczności przyżyciowego pobierania próbek. Na zakończenie eksperymentu, przewidziano małoinwazyjne pobranie materiału do dalszych badań (zasada udoskonalenia).

#### 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.