

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu *Zastosowanie biomimetycznych pokryć w zaawansowanej terapii raka wątroby*

2. Czas trwania projektu: 20 marca 2020 r. – 20 czerwca 2022 r.

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) rak wątrobowokomórkowy/ chemioterapia/ fototerapia/ nanocząstki polidopaminy/ model eksperymentalny

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.

Celem doświadczenia jest zbadanie efektywności łączonej chemio- i fototerapii raka wątrobowokomórkowego z wykorzystaniem platformy opartej na polimerowych nanocząstkach polidopaminy (PDA-NPs), o silnych właściwościach fototermicznych opłaszczonych nowotworowymi błonami komórkowymi (biomimetyczne nanocząstki), które pozwolą na wydłużony czas krążenia we krwi oraz aktywne celowanie w komórki nowotworowe. Uwalnianie leku przeciwnowotworowego (doksorubicyny) z nośnika w miejscu docelowym powinno przyczynić się do zmniejszenia efektów ubocznych rutynowo stosowanej chemioterapii. Ważnym elementem doświadczenia będzie ocena biodystrybucji nanocząstek, która dostarczy informacji o lokalizacji badanych nanocząstek w organizmie oraz skuteczności celowanego dostarczenia do komórek nowotworowych. Obrazowanie zostanie wykonane nieinwazyjnie w 4 punktach czasowych (po 0,5; 6; 24h i 7 dniach od podania), z wykorzystaniem systemu Xenogen oraz skanera MRI 9,4 T. W zaplanowanych badaniach z udziałem 96 samic myszy domowej (*Mus musculus*) wsobnych szczepu

BALB/c-Nude, zostaną wszczepione podskórną ludzkie komórki nowotworu wątroby. Myszy z wywołanym nowotworem zostaną losowo podzielone na 12 grup, odpowiadających procedurom I-XII, otrzymujących:

- I. PBS(vehiculum),(kontrolna),n=8;
- II. PBS i poddawana napromieniowaniu laserem(fototerapia),n=8;
- III. lek przeciwnowotworowy bez nośnika(chemioterapia),n=8;
- IV. nanomateriały bez leku,n=8;
- V. nanomateriały z lekiem(chemioterapia),n=8;
- VI. nanomateriały bez leku, napromieniowane laserem(fototerapia),n=8
- VII. lek bez nośnika, napromieniowanie laserem(chemioterapia+fototerapia),n=8;
- VIII. nanomateriały z lekiem, napromieniowane laserem(chemioterapia+fototerapia),n=8;
- IX. PBS(kontrola, obrazowanie fluorescencyjne),n=4;
- X. nanomateriały bez leku (badanie biodystrybucji – obrazowanie fluorescencyjne),n=12;
- XI. PBS(kontrola, obrazowanie MRI),n=4;
- XII. nanomateriały bez leku(badanie biodystrybucji – obrazowanie MRI),n=12.

Przewidywane szkody w trakcie eksperymentu u badanych zwierząt doświadczalnych to stres związany z iniekcją, pojawienie się objawów związanych ze wzrostem guza. **W momencie zaobserwowania oznak cierpienia procedura zostanie niezwłocznie zakończona, zwierzęta zostaną natychmiast humanitarnie uśmiercone.** Szkodą ostateczną będzie śmierć zwierząt.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Badanie zostanie przeprowadzone z udziałem **96 samic myszy domowej (*Mus musculus*), stado krewniacze, myszy wsobne szczepu BALBc-Nude.**

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Na podstawie przeglądu istniejącej literatury, stwierdzam, że są to badania oryginalne, innowacyjne i brak jest danych dotyczących oceny efektywności łączonej chemio- i fototerapii raka wątrobowokomórkowego z wykorzystaniem platformy opartej na polimerowych (polidopamina) nanocząstkach o silnych właściwościach fototermicznych, opłaszczonych nowotworowymi błonami komórkowymi (biomimetyczne nanocząstki). Przy wykonywaniu wszystkich procedur na zwierzętach zawsze będzie stosowana zasada 3R (Replacement, Reduction, Refinement), odnosząca się do polepszenia bytu i humanitarnego traktowania zwierząt:

Zasada udoskonalenia: Codziennie będzie prowadzona kontrola stanu zwierząt co potencjalnie pozwoli na szybkie zidentyfikowanie wszystkich chorych lub okaleczonych zwierząt i podjęcie odpowiednich działań. Wszystkie czynności będą wykonywane przez znaną zwierzętom osobę wykonującą doświadczenie, procedury badawcze będą poprzedzone 5 dniowym

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

oswojeniem/handlingiem, co pozwoli zwierzętom przyzwyczaić się do eksperymentatorów i ograniczy ewentualny stres odczuwany przez zwierzęta. Zwierzęta będą utrzymywane w klatkach zawierających wzbogacenia (klocki drewniane, bawełniane kokony na ściółce osikowej odpylonej), co poprawi ich dobrostan. Przed naświetlaniem laserem oraz wizualizacją *in vivo* za pomocą systemu Xenogen oraz skanera MRI 9,4 T zostanie podany anestetyk wziewnie (izofluran) co zminimalizuje dystres jakiego mogłyby doświadczyć zwierzęta. Osoba przeprowadzająca doświadczenie będzie również przygotowana do przeprowadzenia zabiegu uśmiercania (również w przypadkach nagłych) przez zastosowanie humanitarnej procedury uśmiercania, tak aby radykalnie zminimalizować ból, cierpienie, dystres.

Zasada ograniczenia: czyli zmniejszenie całkowitej liczby zwierząt użytych w doświadczeniu. W grupach I-VIII zaproponowano 8 osobników ze względu na ryzyko (ok. 10-20%), że nie u wszystkich osobników zostanie wywołany guz. Wówczas do grup zostanie przydzielonych po 6 (± 2) osobników co stanowi minimum do oceny statystycznej wyników badań. Do oceny biodystrybucji PDA-NPs znakowanych lucyferazą (grupa X) lub metalem kontrastującym Fe^{3+} (grupa XII), użyte zostaną po 3 osobniki na każdy zaplanowany punkt czasowy (po 0,5; 6; 24 h i 7 dniach od podania nanomateriałów) w grupie X oraz w grupie XII, a w celu kontroli - po 1 osobniku na każdy punkt czasowy (w grupie IX oraz XI), któremu podawane będzie vehiculum (PBS). Zaproponowana liczebność grup badanych stanowi optymalną liczbę aby zmaksymalizować naukową integralność generowanych danych przy jednoczesnym wykorzystaniu minimalnej liczby zwierząt, niezbędną do obliczeń statystycznych wyników badań i wyciągnięcia na tej podstawie właściwych wniosków z przeprowadzonego eksperymentu.

Zasada zastąpienia: W odniesieniu do zaproponowanego doświadczenia myszy Nude są modelowymi zwierzętami wykorzystywanymi do tego typu badań. Nie jest możliwe zastąpienie doświadczeń na zwierzętach metodami *in vitro* (hodowle komórkowe, tkankowe) ze względu na konieczność analizy mechanizmów zachodzących w organizmie żywym. Leki przeciwnowotworowe testowane na kulturach komórkowych *in vitro* często nie mogą być przenoszone na warunki, w których nowotwory rosną u ludzi, z powodu braku odpowiedniego mikrośrodowiska guza, które ma wpływ na rozwój guza i interakcji podczas wzrostu (np. unaczynienie, układ odpornościowy itd.). Przedkliniczna faza badań nad rakiem musi obejmować modele *in vivo*, które możliwie odwzorowują warunki rozwoju nowotworu w ludzkim organizmie, tak aby można je później przenieść na warunki kliniczne z udziałem ludzi. Zastąpienie myszy zwierzętami o niższym stopniu rozwoju ewolucyjnego również nie pozwoli potwierdzić lub wykluczyć hipotezy badawczej ze względu na różnice anatomiczne i fizjologiczne w porównaniu do ssaków. W związku z tym badania przeprowadzone na bezkręgowcach nie miałyby odniesienia do zjawisk obserwowanych u pacjentów.

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.