

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Ocena interakcji farmakokinetycznej między lapatynibem i klarytromycyną u szczurów
2. Czas trwania projektu: 12 miesięcy
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): lapatynib, klarytromycyna, interakcja lek-lek, szczury
4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): B; Badania translacyjne lub stosowane (stosowane)
  - 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 określenie wpływu klarytromycyny na parametry farmakokinetyczne (PK) lapatynibu u szczurów.

Klarytromycyna jest jednym z najczęściej stosowanych antybiotyków makrolidowych, głównie w infekcjach górnych dróg oddechowych, natomiast lapatynib jest lekiem przeciwnowotworowym, należącym do grupy inhibitorów kinaz tyrozynowych, który zarejestrowany jest do leczenia dorosłych pacjentek z rakiem piersi, u których nowotwór wykazuje nadekspresję receptora HER2. Klarytromycyna jest znanym inhibitorem izoenzymu CYP3A4 (odpowiedzialnym za metabolizm większości leków) i odpowiada za szereg interakcji potwierdzonych *in vivo* na modelu zwierzęcym i u ludzi. Z tego

względu, informacja o interakcji z tym właśnie antybiotykiem jest bardzo pożądana i często ujęta w charakterystykach produktów leczniczych.

Lapatynib jest intensywnie metabolizowany, głównie przez CYP3A4, dlatego istnieje duże prawdopodobieństwo interakcji z inhibitorami CYP3A4, m.in. z klarytromycyną. Konsekwencją takiej interakcji może być istotne zwiększenie stężenia maksymalnego oraz całkowitej ekspozycji na lapatynib i w konsekwencji wystąpienie działań niepożądanych, szczególnie występujących bardzo często i często (m.in. biegunki, wymioty, krwawienie z nosa, bóle głowy, wysypka, hepatotoksyczność). Przy łącznym stosowaniu lapatynibu i ketokonazolu, silnego inhibitora CYP3A4, zaobserwowano, że systemowa ekspozycja na lapatynib zwiększyła się o około 3,6 razy, a okres półtrwania (czyli czas związany z eliminacją leku) zwiększył się 1,7 razy, a konkluzją badania była informacja, iż należy unikać jednoczesnego podawania lapatynibu i silnych inhibitorów CYP3A4. Zatem korzyścią o znaczeniu klinicznym z planowanego badania jest potwierdzenie lub wykluczenie interakcji farmakokinetycznej między tymi lekami, co pozwoli wnioskować o konieczności modyfikacji dawki lapatynibu u pacjentów.

Planowane jednorazowe podanie klarytromycyny (25 mg/kg m.c.) oraz lapatynibu (100 mg/kg m.c.) nie wywołuje u szczurów stwierdzanych klinicznie efektów ubocznych.

Przewidywane szkody podczas proponowanego doświadczenia mogą wiązać się z dystresem zwierząt podczas podawania leków oraz pobierania próbek krwi, jednak wszystkie procedury zostały zaplanowane z jak najmniejszą inwazyjnością. Dodatkowo we wniosku został przedstawiony szczegółowy opis zasad: zastąpienia, ograniczenia i udoskonalenia, które w największej dokładności eliminują prawdopodobieństwo wystąpienia szkód u zwierząt doświadczalnych.

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

16 dorosłych szczurów Wistar (16 samców)

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

Doświadczenie zostanie przeprowadzone na grupie 16 szczurów. Uzyskanie 8 profili

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

farmakokinetycznych dla grupy testowanej oraz grupy porównawczej pozwoli przeprowadzić wiarygodną opisową analizę statystyczną parametrów farmakokinetycznych lapatynibu. Przeprowadzając badania farmakokinetyki innych inhibitorów kinaz tyrozynowych wykorzystano ocenę 8 profili farmakokinetycznych w grupie testowanej oraz grupie porównawczej (Lin et al., Pharmacology 2015;95:160-165; Yang et al. Xenobiotica 2014;44:1009-1013.). Dodatkowo liczba pobranych próbek krwi została zminimalizowana do niezbędnej, ale umożliwiającej wyliczenie parametrów PK leku. Dodatkowo został zamieniony gatunek zwierząt planowanych do włączenia do badania z królików na szczury poprzez poprawę warunków analitycznych oznaczenia stężeń leku w osoczu i tym samym została zminimalizowana jednorazowa objętości krwi pobrana od zwierzęcia.

W celu zapewnienia optymalnego dobrostanu, szczury będą utrzymywane w grupach po 2 osobniki tej samej płci w klatkach zawierających wzbogacenia (klocki drewniane, rurki). Planowane jednorazowe podanie *p.o.* klarytromycyny (25 mg/kg m.c.) oraz lapatynibu (100 mg/kg m.c.) nie wywołuje u zwierząt stwierdzanych klinicznie efektów ubocznych. Dodatkowo po pobraniu każdej próbki krwi do jamy ustnej zwierzęcia przez sondę zostanie podana równoważna objętość soli fizjologicznej. Aby zminimalizować cierpienie zwierząt natychmiast po pobraniu ostatniej próbki krwi szczury zostaną poddane eutanazji.

### **Sposób realizacji zasady 3R**

#### **1. Udoskonalenie**

- zastosowanie właściwej diety; zwierzęta będą karmione certyfikowaną paszą bytową.
- codzienna kontrola stanu zwierząt oraz wymiana ściółki (co 2 dni) pozwolą na szybkie zidentyfikowanie wszystkich chorych lub okaleczonych zwierząt i podjęcie odpowiednich działań oraz zapewnienie higieny.
- zastosowane metody badawcze zostały wybrane tak, aby ograniczyć do minimum albo eliminować ból, cierpienie.
- wszystkie czynności będą wykonywane przez znanego zwierzętom i doświadczonemu eksperymentatorowi lub osobę wykonującą.
- każda z procedur będzie poprzedzona intensywnym procesem handlingu/oswojenia co pozwoli zwierzętom przyzwyczać się do eksperymentatorów i ograniczy stres odczuwany przez zwierzęta.
- zwierzęta będą utrzymywane w klatkach zawierających wzbogacenia (klocki drewniane, rurki).

- podawane zwierzętom w trakcie doświadczenia roztwory będą miały temperaturę zbliżoną do temperatury ciała szczura, co zapewni uniknięcie szoku temperaturowego i uczucia dyskomfortu.
- na końcu każdej procedury szczury zostaną uśmiercone przez przedawkowanie: ketaminy i ksylazyny.
- eksperymentator zgłasza pełną gotowość do przeprowadzenia zabiegu uśmiercania w przypadkach nagłych przez zastosowanie humanitarnej procedury uśmiercania.

## **2. Ograniczenie**

- do doświadczeń włączono 2 grupy po 8 zwierząt ( $n=8$  samców), w celu uzyskania wiarygodnych, istotnych statystycznie wyników.
- na ograniczenie ilości wykorzystanych zwierząt pozwalają także inne czynności minimalizujące zmienność i zwiększające powtarzalność pomiarów takie jak: stabilna pasza, jednorodność grup badanych pod względem wieku i masy ciała; równy okres kwarantanny; ten sam/znany eksperymentator, zachowanie reżimu czasowego procedur.
- dodatkowo została zminimalizowana objętość krwi pobieranej od zwierząt (ale niezbędnej do przeprowadzenia prawidłowej analizy stężenia leku) w wyniku poprawy warunków analitycznych poprzez zmianę metody - z HPLC (wymagającej 1 mL krwi na każdy punkt czasowy) na bardziej czułą: HPLC-MS/MS (wymagającej 200  $\mu$ L krwi).

## **3. Zastąpienie**

- nie można zastosować metody badawczej zapewniającej osiągnięcie celów (ocena wpływu klarytromycyny na farmakokietykę lapatynibu) bez wykorzystania zwierząt doświadczalnych, co wynika z niemożności obserwacji in vitro/in silico pełnego spektrum zmian jakie w organizmie powoduje wystąpienie interakcji lek-lek,
- dodatkowo zmieniono gatunek zwierząt doświadczalnych z królików na szczury.