

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Ocena interakcji międzylekowych: sorafenibu i metforminy u szczurów

2. Czas trwania projektu: 10.03.2019-01.12.2020

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) sorafenib, metformina, interakcja lek-lek

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) B. „Badania translacyjne lub stosowane” (Badania stosowane); niewymagane przepisami w zakresie toksykologii i ekotoksykologii. Kategoria – [PT37]

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 sorafenibu na parametry farmakokinetyczne (PK) metforminy, a także ocena wpływu metforminy na farmakokinetykę sorafenibu oraz N-tlenku sorafenibu (aktywnego metabolitu).

Proponowana interakcja lekowa wynika z zależności, że pacjenci z cukrzycą (w tym typu 2, najczęściej występującej u osób po 40 r.ż.) są bardziej obciążeni ryzykiem wystąpienia choroby nowotworowej. Metformina, jest lekiem pierwszego wyboru w terapii cukrzycy typu 2. Natomiast sorafenib jest lekiem pierwszego wyboru u pacjentów z rakiem wątrobowokomórkowym, u których bardzo często występuje cukrzyca typu 2 oraz stan przedcukrzycowy (insulinooporność). Z uwagi na profil farmakoterapii sorafenibem i metforminą zachodzi duże prawdopodobieństwo, że leki będą stosowane jednocześnie.

Korzyści z przeprowadzonego badania wiążą się z uzyskaniem informacji w jakim stopniu sorafenib wpłynie na stężenie metforminy, co może wiązać się z nasileniem działań niepożądanych leku, a także uzyskamy informację czy sama metformina wpływa na ekspozycję na sorafenib co może mieć wpływ na odpowiedź na leczenie onkologiczne (nasilenie działań niepożądanych bądź progresja choroby-nasilenie jej postępu).

Przewidywane szkody podczas proponowanego doświadczenia mogą wiązać się z dystresem zwierząt podczas podawania leku 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. Do dodatkowych szkód, które doznają zwierzęta zaliczamy również śmierć.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

16 dorosłych szczurów wędrownych *Rattus norvegicus*, stado niekrewniacze Wistar (16 samców dojrzałych płciowo)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych PubMed, Ebsco, Google Scholar, Science Direct, Wiley, stosując słowa kluczowe: *sorafenib*, *metformina*, *pharmacokinetics*, *drug-drug interactions*. Uzasadnienie potrzeby przeprowadzenia badań farmakokinetyki przedstawiono w pkt. 6 wniosku. Zaplanowanego badania nie można przeprowadzić w warunkach *in vitro* ani za pomocą symulacji *in silico*, ponieważ żaden z tych modeli nie jest w stanie odtworzyć modelu fizjologicznego. Modele te można zastosować w badaniach toksykologicznych ewentualnie w symulacji absorpcji leku przez skórę bądź wiązania z białkami osocza. Doświadczenie zostanie przeprowadzone na grupie 16 szczurów. Uzyskanie 8 profili farmakokinetycznych (profil zmian stężenia leku we krwi w czasie oraz obliczenia parametrów farmakokinetycznych-PK, takich jak stężenie maksymalne, czas potrzebny na osiągnięcie stężenia maksymalnego, okres biologicznego półtrwania, klirens, stała szybkość eliminacji leku, objętość dystrybucji) dla grupy badanej oraz grup kontrolnych pozwoli przeprowadzić wiarygodną opisową analizę statystyczną parametrów farmakokinetycznych metforminy, a także sorafenibu i jego aktywnego metabolitu N-tlenku sorafenibu. Planując badania farmakokinetyki sorafenibu opierano się na innych badaniach PK inhibitorów kinaz tyrozynowych, gdzie autorzy badań oceniali 8 profili farmakokinetycznych w grupie badanej oraz grupie kontrolnej (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 zmieniony gatunek zwierząt planowanych do włączenia do badania - z królików na szczury. Jest to możliwe dzięki poprawie warunków analitycznych oznaczenia stężeń leku w osoczu, została bowiem zminimalizowana jednorazowa objętości krwi pobierana od zwierzęcia (tj. 0,1 mL). Sumaryczna objętość pobranej krwi od szczurów z grupy badanej będzie wynosiła 2,0 mL, natomiast od szczurów z grupy kontrolnej I, sumaryczna objętość krwi pobrana od jednego osobnika będzie wynosiła 1,2 mL.

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 sorafenibu w dawce 100 mg/kg m.c. oraz metforminy w dawce 100 mg/kg m.c. nie wywołuje u

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

zwierząt stwierdzanych klinicznie efektów ubocznych. Natychmiast po pobraniu ostatniej próbki krwi szczury zostaną poddane eutanazji w celu oceny histopatologicznej tkanek: mózg, wątroba, nerki, płuca (procedura pośmiertna).

Sposób realizacji zasady 3R

1. Udoskonalenie

- Została zminimalizowana objętość krwi pobieranej od zwierząt (ale niezbędnej do przeprowadzenia prawidłowej analizy stężenia leku) w wyniku poprawy warunków analitycznych poprzez walidację metody HPLC wymagającej 100 μ L (0,1 mL) krwi.

2. Ograniczenie

- Do doświadczeń włączono 2 grupy po 8 osobników, 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, masy ciała oraz płci (samce); równy okres kwarantanny; ten sam/znany eksperymentator, zachowanie reżimu czasowego procedur.

3. Zastąpienie

- nie można zastosować metody badawczej zapewniającej osiągnięcie celów bez wykorzystania zwierząt doświadczalnych, co wynika z niemożności obserwacji *in vitro/in silico* pełnego spektrum zmian jakie w organizmie obserwujemy podczas interakcji lek-lek,

- dodatkowo zmieniono gatunek zwierząt doświadczalnych z królików na szczury,

- dane farmakokinetyczne uzyskane dla grupy kontrolnej II (grupa otrzymująca sam sorafenib) zostaną wykorzystane z projektu: Ocena interakcji międzylekowych: sorafenibu i paracetamolu u szczurów (uchwała Krajowej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach z dnia 17.11.2017 r. nr 61/2017).

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.