

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Zbadanie aktywności przeciwnowotworowej kombinacji znanych cytostatyków (DOX, 5-FU) w połączeniach z sulforafanem i jego fluoroselenową pochodną.

2. Czas trwania projektu .19.06.2019 - 31.12.2020

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) sulforafan, terapia skojarzona, rak piersi

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.

Izotiocyjaniiny (ITC), w tym sulforafan (SFN) to grupa związków pochodzenia naturalnego, które wykazują właściwości przeciwnowotworowe. Oprócz cytotoksycznego wpływu na komórki nowotworowe, potwierdzonego w wielu liniach komórkowych i modelach *in vivo*, ITC wykazują działanie cytoprotekcyjne w prawidłowych komórkach poprzez regulację aktywności enzymów uczestniczących w metabolizmie ksenobiotyków. Badania prowadzone w Narodowym Instytucie Leków w Warszawie i Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu wykazały, że SFN, jak i jego analogi mogą uwrażliwiać komórki rakowe na leki stosowane w terapiach przeciwnowotworowych [1]. Efektem tych prac są publikacje jak i uzyskane i złożone patenty. Obejmują one połączenia SFN z doksorubicyną (DOX) (forma liposomalna) i 5-fluorouracylem (5-FU) badane w komórkach nowotworowych gruczołu sutkowego i jelita grubego, jak również w modelu komórek prawidłowych. Wykazano, że SFN jak i jego analogi intensyfikują działanie przeciwnowotworowe DOX i 5-FU (patent) [2]. Obserwowany synergizm działania umożliwia znaczną redukcję stężenia cytostatyków i bardziej skuteczne hamowanie wzrostu komórek nowotworowych. Co ważne, szczególnie silne działanie przeciwnowotworowe badane kombinacje wykazują wobec ludzkiej linii komórkowej MDA-MB-231, będącej modelem raka gruczołu sutkowego potrójnie-negatywnego, inwazyjnego i opornego na chemioterapię.

W ramach współpracy między ośrodkowej, w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, zamierzamy prowadzić badania kombinacji znanych cytostatyków (DOX, 5-FU) w połączeniach z SFN, a także sprawdzić aktywność przeciwnowotworową fluoroselenowej pochodnej SFN, samodzielnie i w kombinacjach. Z uwagi na korzystne własności umieszczenia zarówno cytostatyku, jak dokсорubicyna (leki używane w klinice np. Doxil), jak i SFN (badania własne) w nośnikach leków lub w formie nanocząstek (z selenem) planowane jest ich podawanie również w takiej formie. Badany będzie wpływ pojedynczych związków i/lub ich kombinacji na wzrost guza, a pobrany materiał umożliwi dalszą analizę biochemiczną i molekularną.

W pierwszym etapie badań na myszach bez nowotworu chcemy ustalić maksymalnie tolerowaną dawkę (MTD) badanych związków (SFN, SFN w formie liposomowej, SFN+DOX w formie liposomowej, nanocząstki SFN-SeNP, fluoroselenowa pochodna SFN) by następnie sprawdzić ich potencjał przeciwnowotworowy w monoterapii i terapii skojarzonej z DOX lub 5-FU w modelu mysiego raka sutka 4T1 (obserwacja kinetyki wzrostu guzów także analiza tkanek)

1. Mielczarek, L., Chilmonczyk, Z., Suchocki, P., Wroczy-ski, P., Wiktorska, K. Combinations of isothiocyanates with drugs - A chance or threat to chemoprevention and cancer treatment? Acta Pol Pharm 2018; 75: 829-841

2. Wiktorska K, Śliwka L, Krug K, Mazur M, Chilmonczyk Z. Formulacja farmaceutyczna zawierająca izotiocyaniany i dokсорubicynę do zastosowania w leczeniu nowotworów. P. 414021.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W badaniach zostanie użytych 216 samic myszy szczepu Balb/c w wieku 6-8 tygodni

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Badania w modelach zwierzęcych są konieczne do przeprowadzenia w celu oszacowania wydajności hamowania wzrostu guzów nowotworowych przez badane związki SFN w monoterapii i w kombinacji z dokсорubicyną bądź 5-fluorouracylem, czego żaden test *in vitro* nie jest w stanie zastąpić. Niemniej badania te będą prowadzone w oparciu o zasady 3R.

Przygotowując projekt badawczy analizie została poddana literatura dotycząca zastosowania sulforafanu w kombinacji z lekami stosowanymi w leczeniu raka piersi (przykładowe słowa kluczowe: sulforaphane, combination therapy, allograft models, 5-fluorouracil, doxorubicine, Sulforaphane-conjugated selenium nanoparticles, Organofluorine Isoselenocyanate Analogues of Sulforaphane). Przegląd literatury wskazuje na duże zainteresowanie sulforafanem, jaki i jego pochodnymi, jako potencjalnymi lekami przeciwnowotworowymi.

Wyniki naszych dotychczasowych doświadczeń *in vivo* oraz stosowane metody statystyczne pozwalają stwierdzić, że przewidziane minimalne liczebności zwierząt przypadających na każdą grupę są wystarczające do wiarygodnego oszacowania skuteczności stosowanej terapii (zasada ograniczenia i udoskonalenia). Bazując na danych uzyskanych z przeprowadzonych badań, można będzie dokonać wiarygodnej oceny skuteczności sulforafanu, jaki i jego pochodnych w monoterapii bądź w skojarzeniu z cytostatykami.

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

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

Myszy wykorzystywane do zaplanowanych doświadczeń utrzymywane będą w warunkach zapewniających dobrostan zwierząt. Badania będą prowadzone przez doświadczonych osoby, co pozwoli na przeprowadzenie badań z ograniczonym do minimum stresem czy bólem (zasada udoskonalenia). Zaplanowane procedury zaprojektowano tak, by ograniczyć ból, cierpienie i dystres wykorzystywanych zwierząt. W przypadku zaobserwowania znacznego pogorszenia stanu zdrowia zwierząt (np. spadek masy powyżej 20%) zostanie zastosowane wczesne, humanitarne zakończenie procedury. Także myszy z wyraźnym guzem nowotworowym (powyżej 2000 mm³) poddane zostaną eutanazji.

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.