

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Wpływ simwastatyny dostarczanej z wykorzystaniem kierowanego nośnika liposomowego na komórki raka piersi.

2. Czas trwania projektu: 22.05.2017 – 30.12.2017

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): kierowana liposomowa postać simwastatyny

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): **A. Badania podstawowe**

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.

Statyny (m.in. simwastatyna) są grupą leków obniżających poziom cholesterolu, szeroko wykorzystywaną w leczeniu hipercholesterolemii. Od lat 90-tych uważane są za obiecujący lek przeciwnowotworowy [1]. Jednakże, głównie z uwagi na farmakokinetykę, statyny wykazują działanie przeciwnowotworowe w dawkach wielokrotnie wyższych niż dawki obecnie wykorzystywane w leczeniu chorób układu sercowo-naczyniowego [2]. Obecnie stosowana dawka simwastatyny w leczeniu hipercholesterolemii u ludzi to około 40 mg/kg m.c. przyjmowane doustnie [3, 4]. Aktywność przeciwnowotworową simwastatyny w badaniach in vivo obserwuje się dopiero przy dożylnym podaniu dawki w wysokości 5 mg/kg m.c. [5], co powoduje występowanie poważnych efektów ubocznych [6]. Rozwiązaniem tego problemu powinno być proponowane przez nas dostarczanie statyn zamkniętych w kierowanych, liposomowych nośnikach, bezpośrednio do komórek guza nowotworowego.

Celem tak opracowanej terapii będą nowotwory z ekspresją EGFR. Simwastatyna, poprzez zahamowanie syntezy cholesterolu w komórkach nowotworowych, wpłynie m.in. na dysfunkcję błon

komórkowych, a przez to zakłóci stymulację szlaków sygnałowych promujących proliferację i przerzutowanie, indukowanych przez aktywację EGFR.

Badania *in vivo* mają na celu sprawdzenie efektywności zaprojektowanego preparatu liposomowego w leczeniu guzów nowotworowych. Chcemy także określić okres cyrkulacji nośnika w organizmie żywym oraz jego biodystrybucję, co dałoby jednoznaczną odpowiedź na pytanie o zasadność stosowania celowanej terapii statynami.

W przeprowadzonych do tej pory badaniach *in vitro*, wykazaliśmy, że liposomy kierowane przyłączają się selektywnie do komórek docelowych. Ponadto wyznaczyliśmy wartość IC_{50} kierowanego preparatu liposomowego; zaobserwowaliśmy także brak toksyczności pustego nośnika.

Wykazanie skuteczności opracowanych nośników da podstawy do opracowania liposomowej terapii statynami, która być może w przyszłości znajdzie kliniczne zastosowanie w leczeniu nowotworów.

Literatura:

- [1] Osmak M. Statins and cancer: Current and future prospects. *Cancer Letters* 2012;324:1-12.
- [2] Garcia MJ, Reinoso RF, Sanchez Navarro A, Prous JR. Clinical pharmacokinetics of statins. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2003;25(6):457-81.
- [3] Berger GM, Marais AD, Seftel HC, Baker SG, Mendelsohn D, Welsh NH, Joffe BI. Treatment of hypercholesterolemia with the HMG CoA reductase inhibitor, simvastatin. *Cardiovasc Drugs Ther.* 1989;3(2):219-27.
- [4] Murtola TJ, Visvanathan K, Artama M, Vainio H, Pukkala E. Statin use and breast cancer survival: a nationwide cohort study from Finland. *PLoS One.* 2014;9(10):e110231. doi:10.1371/journal.pone.0110231.
- [5] Coimbra M, Banciu M, Fens MH, de Smet L, Cabaj M, Metselaar JM, Storm G, Schiffelers RM. Liposomal pravastatin inhibits tumor growth by targeting cancer-related inflammation. *J Control Release.* 2010;148(3):303-10.
- [6] Alsheikh-Ali AA, Maddukuri PV, Han H, Karas RH. Effect of the magnitude of lipid lowering on risk of elevated liver enzymes, rhabdomyolysis, and cancer: insights from large randomized statin trials. *J Am Coll Cardiol.* 2007;50(5):409-18.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Planowane jest wykorzystanie 70 myszy szczepu NOD-SCID.

70 osobników zostanie podzielone na 8 grup doświadczalnych, z których każda grupa otrzyma 1 x tygodniowo przez 6 tygodni lek w formie wolnej lub liposomowej bądź rozpuszczalnik.

Planowane jest 6-cio krotne podanie simwastatyny w dawce w wysokości 5 mg/kg m.c. jednorazowo, w odstępach co 7 dni. Skuteczność i zasadność stosowania tej dawki została już potwierdzona literaturowo [1, 2, 3].

[1] Coimbra M, Banciu M, Fens MH, de Smet L, Cabaj M, Metselaar JM, Storm G, Schiffelers RM. Liposomal pravastatin inhibits tumor growth by targeting cancer-related inflammation. J Control Release. 2010;148(3):303-10.

[2] Alupeu MC, Licarete E, Patras L, Banciu M. Liposomal simvastatin inhibits tumor growth via targeting tumor-associated macrophages-mediated oxidative stress. Cancer Lett. 2015;356(2 Pt B):946-52.

[3] Kikuchi T, Nagata Y, Abe T. In vitro and in vivo antiproliferative effects of simvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, on human glioma cells. J Neurooncol. 1997;34(3):233-9.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych:

__PUBMED; __Google Scholar; __ScienceDirect; __Web of Science (JCR);

Wykorzystałam/em słowa kluczowe:

simvastatin, breast cancer, MDA-MB-231, antiproliferative, cytotoxic, anticancer, statins

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że: Statyny wykazują aktywność przeciwnowotworową zastosowane w wysokich dawkach, dominują artykuły dotyczące aktywności przeciwnowotworowej wybranych związków w testach *in vitro*.

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że: statyny były badane w testach *in vivo* odnośnie aktywności przeciwnowotworowej. Jednakże zastosowanie terapii liposomowej opierające się jedynie na zastosowaniu niekierowanych liposomów – nośników statyn w leczeniu czerniaka [1, 2] i raka okrężnicy [3] wskazuje na wysokie prawdopodobieństwo skuteczności proponowanej przez nas terapii celowanej.

B. Brak jest danych, lub też dane są mało wiarygodne lub nie są sprawdzone w zakresie: aktywności przeciwnowotworowej simwastatyny zamkniętej w formie liposomowej w testach *in vivo* oraz aktywności formy liposomowej w modelu raka gruczołu sutkowego MDA-MB-231.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na: określenie aktywności przeciwnowotworowej liposomowej formułacji simwastatyny w badaniach *in vivo* w modelu ludzkiego raka gruczołu sutkowego MDA-MB-231 z ekspresją EGFR.

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

A/ Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze lub ugruntowanie istniejącej wiedzy w kierunku odnośnie wpływu formulacji liposomowej zawierającej statyny na aktywność przeciwnowotworową wobec nowotworu gruczołu sutkowego linii MDA-MB-231 w badaniach *in vivo*.

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na: wpływie liposomów celowanych z simwastatyną na rozwój ludzkiego nowotworu gruczołu sutkowego oraz cenie użyteczności i bezpieczeństwa stosowania simwastatyny zamkniętej w celowanych liposomach jako leku w terapii przeciwnowotworowej. Otrzymane wyniki mogą być podstawą do późniejszych badań klinicznych, mających na celu produkcję bezpiecznych preparatów liposomowych z simwastatyną o działaniu przeciwnowotworowym.

W badaniu zaplanowano wykorzystanie takiej liczby zwierząt, która umożliwi uzyskanie istotnych wyników (istotnych statystycznie).

Myszy wykorzystywane do zaplanowanych doświadczeń utrzymywane będą w warunkach zapewniających dobrostan zwierząt. Zaplanowane procedury zaprojektowano tak, by możliwie maksymalnie ograniczyć liczbę zwierząt w badaniu oraz by zminimalizować ból, cierpienie i stres wykorzystywanych zwierząt. W przypadku zaobserwowania znacznego pogorszenia stanu zdrowia zwierząt zostanie zastosowane wczesne, humanitarne zakończenie procedury. Ponadto u myszy z wyraźnym guzem nowotworowym stosowany będzie preparat przeciwbólowy.

[1] Coimbra M, Banciu M, Fens MH, de Smet L, Cabaj M, Metselaar JM, Storm G, Schiffelers RM. Liposomal pravastatin inhibits tumor growth by targeting cancer-related inflammation. *J Control Release*. 2010;148(3):303-10.

[2] Alupei MC, Licarete E, Patras L, Banciu M. Liposomal simvastatin inhibits tumor growth via targeting tumor-associated macrophages-mediated oxidative stress. *Cancer Lett*. 2015;356(2 Pt B):946-52.

[3] Porfire A, Tomuta I, Muntean D, Luca L, Licarete E, Alupei MC, Achim M, Vlase L, Banciu M. Optimizing long-circulating liposomes for delivery of simvastatin to C26 colon carcinoma cells. *J Liposome Res*. 2015;25(4):261-9.