

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Ocena aktywności przeciwnowotworowej kombinacji 5-aza-2'deoksycytydyny i inhibitorów topoizomeraż w modelu ludzkiego raka okrężnicy
2. Czas trwania projektu: 30.09.2018-30.09.2019
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): 5-azanukleozydy, TOP, rak jelita grubego
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.

Raki jelita grubego i odbytu są trzecim z kolei rozpowszechnionym nowotworem na świecie z około 1,4 milionami nowych przypadków, prowadzących do około 700 tysięcy zgonów rocznie. W Polsce każdego roku notowanych jest 11,5 tysięcy zachorowań. Pomimo znacznego postępu we wczesnym wykrywaniu i leczeniu śmiertelność pozostaje ciągle wysoka i wynosi 62%. Obecnie 5-fluorouracyl, irynotekan (IRT) i oksaliplatyna są podstawą chemioterapii przeciwko rakom jelita grubego i odbytu. Niestety, różnorodność genetyczna komórek rakowych prowadzi do znaczących różnic w skuteczności terapii pomiędzy pacjentami na tym samym etapie choroby. Obecnie dopuszczone terapie zawodzą w przypadku znaczącej liczby chorych, dlatego ciągle poszukuje się nowych efektywnych kombinacji leków. Mechanizm działania analogów cytydyny przewiduje wbudowanie się związku do DNA, w

miejsu cytydyny. Uniemożliwia to przeprowadzenie poprawnej metylacji i odtworzenie jej wzoru w potomnej nici DNA po jego replikacji, co czyni je atrakcyjnymi terapeutycznie. Analogi cytydyny uwrażliwiają komórki nowotworowe na działanie innych chemioterapeutyków w wielu typach nowotworów. Nowością jest wykazanie, że zjawisko to może dotyczyć całej grupy związków, jakimi są inhibitory TOP, całej grupy nowotworów.

W badaniach na modelu zwierzęcym zostaną użyte dwa leki: 5-aza-2'-dC, ponieważ na nim zaobserwowano największy i najdłużej utrzymujący się efekt -1486292333 *in vitro* oraz inhibitor topoizomerazy irynotekan, ponieważ jest jedynym z badanych leków dopuszczonym klinicznie do leczenia raków jelita grubego.

Aby zapobiec niespodziewanym upadkom zwierząt w pierwszej kolejności zbadamy toksyczność kombinacji irynotekanu z 5-aza-2'-dC u myszy BALB/c. Ustalony zostanie bezpieczny schemat podawania leków. Następnie określona zostanie aktywność przeciwnowotworowa kombinacji irynotekanu i 5-aza-2'-dC w modelu ludzkiego raka jelita grubego HCT-116 z wykorzystaniem wcześniej ustalonego bezpiecznego dla zwierząt schematu terapeutycznego.

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

BALB/c 12 myszy,  
BALB/c nu/nu 80 myszy

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

W planowanych doświadczeniach, oprócz zaszczepienia komórek nowotworowych i podawania

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

preparatów, monitorowany będzie wzrost guzów i kondycja zwierząt, ukrwienie guzów oraz poziom metabolitów leków we krwi w celu zebrania jak największej ilości informacji dotyczących działania leków. 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 zostaną prowadzone przez doświadczonych osoby, co pozwoli na ograniczenie do minimum stresu czy bólu (zasada udoskonalenia). Zaplanowane procedury zaprojektowano tak, by ograniczyć ból, cierpienie i dystres wykorzystywanych zwierząt. W przypadku zaobserwowania znacznego pogorszenia stanu zdrowia zwierząt zostanie zastosowane wczesne, humanitarne zakończenie procedury. Także myszy z wyraźnym guzem nowotworowym (powyżej 2000 mm<sup>3</sup>) poddane zostaną eutanazji.

Przygotowując projekt badawczy sprawdziłam istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: \_\_PUBMED; \_\_ScienceDirect; \_\_Web of Science (JCR);

Wykorzystałam słowa kluczowe: AZA, 5-azanucleosides, TOP, colon cancer, synergy of AZA and irinotecan, CPT-11 (SN38)

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że dotychczas przeprowadzone badania nad azanukleozydami i ich zastosowaniem jako chemioterapeutyków nie obejmowały do tej pory całej grupy nowotworów i nie wykazywały synergizmu działania z całą grupą związków. Wiele badań przedklinicznych cechowało się wysoką skutecznością tych leków przeciwko wielu typom nowotworów, niestety badania kliniczne zwykle wykazywały już ograniczoną skuteczność analogów cytozyny zwłaszcza w terapii guzów litych.

Nowością w badaniach planowanych przez nasz zespół jest obserwowany na poziomie *in vitro* synergizm współdziałania azanukleotydów z całą grupą związków, jakimi są inhibitory TOP w całej grupie nowotworów jelita grubego. W przeprowadzonych badaniach *in vitro* uwrażliwienie komórek przy pomocy 1 mikroM 5-aza-dC pozwalało na 2-10-krotne zredukowanie stężenia inhibitora TOP w celu osiągnięcia tego samego efektu cytotoksycznego (Pawlak 2016, supplementary data). Dodatkowo, zastosowanie schematu gdzie oddziaływanie dwoma chemioterapeutykami odbywa się w dużym odstępie czasowym, a także możliwość znaczącego zmniejszenia efektywnego stężenia inhibitorów TOP może pozwolić na znaczącą redukcję niepożądanych reakcji związanych z chemioterapią. Ma to szczególne

znaczenie w świetle faktu, że znaczna część kosztów leczenia nowotworów to koszty hospitalizacji związanych z niepożądanymi skutkami chemioterapii. Mamy nadzieję, że proponowane przez nas sekwencyjne użycie dwóch znanych leków pozwoli na zwiększenie ilości opcji terapeutycznych dostępnych w leczeniu raków jelita grubego. Jednak, aby wnioski takie miały poważniejsze podstawy konieczne jest przeprowadzenie badań *in vivo* w modelu HCT-116, a także zwiększenie naszej wiedzy na temat wspólnego działania 5-aza-dC i inhibitorów TOP.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na uzupełnienie istniejącej wiedzy na temat molekularnych aspektów działania stosowanych w terapii inhibitorów metylotransferaz i TOP, co pozwoli na ich bardziej racjonalne użycie w terapii onkologicznej w przyszłości.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną<sup>2</sup>

- ☒ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- ☐ NIE

---

<sup>2</sup> Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.