

Streszczenie

Rak piersi to najczęściej diagnozowana choroba onkologiczna na świecie i jedna z głównych przyczyn śmiertelności związanej z rakiem u kobiet. Odpowiada za około 12,5% nowych diagnoz raka, z ponad 2,3 miliona przypadków wykrywanych każdego roku. Pomimo poprawy metod diagnostycznych i strategii leczenia, rak piersi jest nadal odpowiedzialny za ponad pół miliona zgonów. Spośród wielu jego podtypów, potrójnie ujemny rak piersi (TNBC) jest jednym z bardziej agresywnych podtypów, stanowiącym 15-20% wszystkich diagnoz raka piersi. TNBC jest definiowany przez niedobór receptorów estrogenowych, progesteronowych i receptora 2 ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu, co czyni go opornym na leczenie hormonalne lub leki ukierunkowane na dany receptor. W związku z tym w leczeniu TNBC stosuje się głównie chemioterapię; chociaż początkowo leczenie jest skuteczne, często komórki nowotworowe nabywają oporność, co powoduje nawrót guza i ciężkie toksyczności ogólnoustrojowe. Pięcioletni wskaźnik przeżycia u pacjentek z TNBC z przerzutami jest szokująco niski i wynosi około 12%, co wskazuje na potrzebę lepszych metod leczenia.

Sulforafan (SFN), naturalny izotiocyjanian występujący w warzywach kapustnych, jest intensywnie badany pod kątem jego działania chemoprewencyjnego i przeciwnowotworowego. Wykazano iż działanie SFN może opierać się na drodze indukcji apoptozy, hamowania progresji cyklu komórkowego, modulowania stresu oksydacyjnego czy tłumienia komórek macierzystych raka. Pomimo tego, że wysokie dawki SFN mają wiele efektów przeciwnowotworowych, skuteczność niskich dawek, w szczególności w leczeniu TNBC, nie została jeszcze w pełni wyjaśniona. Ponadto, potencjał SFN do zwiększania skuteczności chemioterapii i łagodzenia skutków ubocznych w połączeniu z konwencjonalnymi lekami cytotoksycznymi nie został jeszcze szczegółowo zbadany.

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej była ocena roli niskich dawek SFN w chemoprewencji i terapii TNBC. Badania przeprowadzono w trzech etapach. W pierwszym etapie przeprowadzono kompleksowy przegląd literatury w celu oceny potencjału profilaktycznego SFN i jego analogów w raku piersi. W kolejnym etapie, opracowano i scharakteryzowano innowacyjny liposomalny system dostarczania leków zawierający SFN i dokсорubicynę (DOX). Działanie tego preparatu testowano w modelach TNBC, koncentrując się na skuteczności leczenia, hamowaniu wzrostu guza i redukcji toksyczności ogólnoustrojowej. W trzeciej fazie pracy zbadano wpływ niskich dawek SFN na progresję TNBC i przerzuty przy użyciu modeli TNBC. Badania przeprowadzono na modelach zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*.

W niniejszej rozprawie doktorskiej wykazano potencjał SFN jako nowego adjuwantu w terapii TNBC. Wyniki wykazały, że SFN, podawany razem z DOX w postaci liposomalnej, wzmocnił działanie cytotoksyczne leku na komórki TNBC, jednocześnie zmniejszając toksyczność wobec prawidłowych komórek nabłonka piersi. Badania *in vivo* potwierdziły, że liposomalny preparat skutecznie docierał do tkanek nowotworowych, prowadząc do znacznego zahamowania wzrostu guza. Analiza działania niskiej dawki SFN na TNBC wykazała skuteczność SFN w zmniejszeniu objętości guza, obniżeniu aktywności mitotycznej komórek, modulacji komórek układu odpornościowego oraz działanie antymetastatyczne w modelu *in vivo* TNBC.

Uzyskane wyniki badań rzucają nowe światło na mechanizm działania SFN, szczególnie jako potencjalnego adjuwantu w terapii TNBC. Otwiera to możliwości opracowania nowych strategii leczenia, zwłaszcza w kontekście terapii skojarzonych z DOX.

Abstract

Breast cancer is the most prevalent malignancy to be identified across the world and is one of the primary cancer-associated mortality causes in females. It is responsible for around 12.5% of new cancer diagnoses, with more than 2.3 million cases found each year. In spite of improvements in detection methods and treatment strategies, breast cancer is still responsible for more than half a million deaths every year. Of its many subtypes, triple-negative breast cancer (TNBC) is one of the more aggressive subtypes, making up between 15-20% of total breast cancer diagnoses. TNBC is defined by a deficiency in estrogen receptors, progesterone receptors, and human epidermal growth factor receptor 2, making it resistant to hormone-based treatment or HER2-targeted drugs. As such, chemotherapy is mainly used to treat TNBC; though initially effective, treatment using this often results in resistance, tumor reappearance, and heavy systemic toxicities. The five-year survival rate in metastatic TNBC patients is very low at approximately 12%, indicating a need for better treatment methods.

Sulforaphane (SFN), a natural isothiocyanate found in cruciferous vegetables, has been studied for its chemopreventive and anticancer effects. SFN is active in various ways, such as inducing apoptosis, inhibiting cell cycle progression and modulating oxidative stress. In spite of high doses of SFN having a great deal of anticancer effects, the efficacy of low doses, in particular in treatment of TNBC, is yet to be clarified in detail. Also, the potential of SFN to synergize chemotherapy efficacy and mitigate side effects when used in combination with conventional cytotoxic drugs is yet to be explored.

The aim of this doctoral dissertation was to evaluate the role of low-dose SFN in TNBC chemoprevention and therapy. The research was conducted in three phases. First, a comprehensive review of the literature was performed to assess the preventive potential of SFN and its analogs in breast cancer. Second, an innovative liposomal drug delivery system encapsulating SFN and doxorubicin (DOX) was developed and characterized. The effects of this formulation were tested in TNBC models focusing on treatment efficacy, tumor growth inhibition, and toxicity reduction. The third phase of the study examined the impact of low-dose SFN on TNBC progression and metastasis. The research was conducted on both *in vitro* and *in vivo* models.

This dissertation highlights the potential of SFN as a novel adjuvant in TNBC therapy. The results demonstrated that SFN, when co-administered with DOX in a liposomal formulation, enhanced the cytotoxic effects of drug on TNBC cells, while simultaneously reducing toxicity to normal breast epithelial cells. *In vivo* studies confirmed that the liposomal formulation effectively targeted tumor tissues, leading to significant tumor growth inhibition. Analysis of low-dose of SFN effects on TNBC demonstrated SFN's efficacy in reducing tumor volume, decreasing cell mitotic activity, modulating immune cells and tumor microenvironment, and antimetastatic effects in an *in vivo* model of TNBC.

The obtained research results provide new insights into the mechanism of action of SFN, particularly as a potential adjuvant in TNBC therapy. This opens up opportunities for developing new treatment strategies, especially in the context of combination therapies with DOX.