

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Określenie skuteczności działania liposomowej postaci latanoprostu na zmianę ciśnienia śródgałkowego u szczura.**

2. Czas trwania projektu **2 lata**

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) liposomy, latanoprost, ciśnienie śródgałkowe, jaskra

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) **B**

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.

Jaskra jest jedną z głównych przyczyn ślepoty u ludzi. Jednym z głównych czynników ryzyka wystąpienia jaskry jest podwyższenie ciśnienia śródgałkowego (ang. *intraocular pressure* IOP). Przewlekła, codzienna aplikacja kropli do oczu zawierających pochodne prostaglandyny F2alfa (latanoprost) jest powszechnie stosowanym leczeniem w jaskrze. Chlorek benzalkonium stosowany jest jako substancja pomocnicza w tych preparatach. Nowoczesne technologie produkcji leków wykorzystują obecnie różne typy nośników liposomalnych transportujących leki do miejsc docelowych, gdzie są one długotrwale uwalniane w małych dawkach. Dzięki temu lek działa efektywniej i jest mniej toksyczny.

Planowane eksperymenty będą miały na celu zbadanie wpływu zamknięcia latanoprostu w otoczce liposomowej na jego efektywność działania po podaży do spojówkowej, w porównaniu do klasycznej postaci leku. Spodziewana redukcja IOP po zastosowaniu formułacji liposomalnej latanoprostu może być wyższa niż po poddaniu klasycznej postaci leku. Dodatkowo preparat liposomowy nie będzie zawierał chlorku benzalkonium,

który po dłuższym stosowaniu wywołuje objawy uboczne, w związku z tym jego eliminacja powinna przynieść znaczne korzyści dla pacjentów z jaskrą.

Badania zostaną zrealizowane z uwzględnieniem zasad zastąpienia, ograniczenia i udoskonalenia. Szkody dla zwierząt doświadczalnych związane z wykonaniem doświadczeń zawartych we wniosku obejmują dyskomfort związany z pomiarem IOP, jednorazowym podaniem kropli do oczu oraz uśmierceniem. Doświadczenia zostały zaplanowane tak, aby jak najbardziej ograniczyć szkody dla zwierząt przy jednoczesnym uzyskaniu założonych celów naukowych. W szczególności, zastosowanie nieinwazyjnych metod pomiaru IOP oraz wykorzystanie szczurów z normalnym poziomem ciśnienia zamiast szczurów z wywołaną jaskrą oraz kilkudniowe przyzwyczajenie szczurów do badania pozwoli na ograniczenie szkód dla zwierząt wykorzystanych w doświadczeniu, a równocześnie pozwoli na uzyskanie wysokiej jakości wyników o dużym potencjale aplikacyjnym.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Szczury (*Rattus norvegicus*) – 42 osobników

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Planowane badania będą polegały na ocenie wpływu zamknięcia latanoprostu w otoczce liposomowej po podaniu dospójówkowym na efektywność działania polegająca na obniżeniu ciśnienia śródgałkowego (IOP) w porównaniu do klasycznej postaci kropli do oczu zawierającego latanoprost i chlorek benzalkonium. W modelu *in vitro* nie jest możliwe odtworzenie wszystkich procesów odpowiedzialnych za regulację ciśnienia śródgałkowego i ich modyfikacji w wyniku podania pochodnych prostaglandyn. Wobec braku metod alternatywnych z wykorzystaniem układów nie-zwierzęcych w doświadczeniu zaplanowano wykorzystanie minimalnej liczby zwierząt (*reduction*), która zapewni osiągnięcie celu badawczego. Podczas planowania badań zastąpiono zwierzęcy model jaskry zwierzętami nie wykazującymi jaskry. Doświadczenia zostały również zaplanowane w taki sposób, aby maksymalnie ograniczyć inwazyjność stosowanych procedur (*refinement*),

Replacement – Zastąpienie

Planowane badania będą polegały na ocenie efektywności działania na obniżenie ciśnienia śródgałkowego liposomalnej lub klasycznej postaci kropli do oczu zawierających latanoprost po podaniu do worka spojówkowego. W modelu *in vitro* nie jest możliwe odtworzenie wszystkich procesów odpowiedzialnych za regulację ciśnienia śródgałkowego i ich modyfikacji w wyniku podania pochodnych prostaglandyn.

Reduction – Ograniczenie

Wobec braku metod alternatywnych z wykorzystaniem układów nie-zwierzęcych odtwarzających wszystkie procesy regulujące poziom ciśnienia śródgałkowego w doświadczeniu zaplanowano wykorzystanie minimalnej

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

liczby zwierząt, która zapewni osiągnięcie celu badawczego i statystycznego. Liczba zwierząt została określona przy pomocy zaawansowanych narzędzi statystycznych. Oszacowana na tej podstawie liczba zwierząt w grupie jest minimalna do uzyskania statystycznie istotnych wyników i pozwolić na weryfikację postawionych hipotez badawczych.

Zastosowanie nieinwazyjnego modelu zwierzęcego powinno ograniczyć zmienność i pozwolić na uzyskanie wiarygodnych wyników przy zastosowaniu mniejszej liczby zwierząt doświadczalnych niż w bardziej skomplikowanych układach badawczych.

Refinement – Udoskonalenie

Zaproponowano nowoczesny, nieinwazyjny i niewymagający znieczulenia ogólnego sposób pomiaru ciśnienia śródgałkowego przy pomocy przeznaczonej dla myszy i szczurów wersji tonometru odbiciowego. Narkoza silnie wpływa na ciśnienie śródgałkowe, dlatego znacznie bardziej wiarygodne są wyniki pomiarów ciśnienia śródgałkowego uzyskane u zwierząt przytomnych. Pomiar taki jest możliwy dzięki zastosowaniu przeznaczonej dla myszy i szczurów wersji tonometru odbiciowego (Tonolab). Tonometr ten pozwala na szybki, nieinwazyjny i bezbolesny pomiar ciśnienia śródgałkowego, a wyniki takiego badania są porównywalne z tymi uzyskanymi metodami inwazyjnymi. W celu ograniczenia stresu zwierząt związanych z chwilowym unieruchomieniem i badaniem pomiary będą wykonywane po pięciodniowym okresie habituacji (przyzwyczajania) do tej procedury. Ponieważ badania na szczurach laboratoryjnych wykazały, że latanoprost obniża ciśnienie śródgałkowe u szczurów mających IOP na prawidłowym poziomie dlatego w badaniach zaplanowano model zwierzęcy niewymagający interwencji chirurgicznej w celu wywołania jaskry.

Wykorzystywane zwierzęta będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku. Zwierzęta będą poddane okresowi adaptacji do nowego otoczenia. Będą przebywały w klatkach po 2 osobniki. Klatki będą wzbogacone w drewniane gryzaki, materiał do gniazdowania i schronienia. Metody badawcze zastosowane w procedurach zostały wybrane tak, aby ograniczały do minimum albo całkowicie eliminowały ból, cierpienie i stres.

Szkody po stronie zwierząt:

Badania będą prowadzone na przytomnych zwierzętach, w związku z tym, mimo pięciodniowej habituacji do badania, nie można wykluczyć, że mogą one odczuwać krótkotrwały, niewielki i dyskomfort i zaniepokojenie związane z unieruchomieniem i podawaniem kropli do oka.

Ze względu na konieczność określenia poziomów latanoprostu w rogowce, płynie przedniej komory oka i ciele szklistym, po przeprowadzeniu badania zwierzęta zostaną poddane uśmierceniu w celu pobrania gałek ocznych.

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.