

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Badanie porównujące biodostępność systemową i w ośrodkowym układzie nerwowym dla dwóch inhibitorów PDE10A - o potencjalnej aktywności w ośrodkowym układzie nerwowym na modelu szczura

2. Czas trwania projektu 23.07.2018 do 30.12.2020

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) Fosfodiesteraza10, inhibicja PDE10A, formuacja leku

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

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.

Białko fosfodiesteraza10 (PDE10A) jest aktywne jedynie w neuronach budujących strukturę prążkowiec w mózgu. Zablokowanie farmakologiczne PDE10A prowadzi do zwiększenia ilości wewnątrzkomórkowych przekaźników sygnałowych, cAMP i cGMP, co doprowadza do prawidłowej synchronizacji działania tych neuronów. Unormowanie ich pracy może pozytywnie wpływać na leczenie objawów pozytywnych w schizofrenii oraz na funkcje poznawcze pacjentów. Wyznaczenie profilu farmakokinetycznego dla różnych składów badanych substancji zostanie przeprowadzone na szczurach, które otrzymają związek dwiema drogami: doustnie lub dożylnie. Badany związek podawany jest jednorazowo. Po podaniu związku, w wybranych punktach czasowych pobrane zostaną przyżyciowo próbki krwi. Eksperyment zakończy się uśmierceniem zwierząt i pobraniem krwi oraz tkanek do dalszych badań. Stopień dotkliwości procedur w tym badaniu został zaklasyfikowany do kategorii

„umiarkowane” –zwierzęta mogą doświadczać krótkotrwałego umiarkowanego bólu, cierpienia lub dystresu lub długotrwałego łagodnego bólu, cierpienia lub dystresu, może to powodować umiarkowane niekorzystne oddziaływanie na dobrostan lub ogólny stan zwierząt, mamy jednak nadzieję że szkody te będą zrównoważone oczekiwanymi korzyściami realizowanego projektu w postaci możliwości opracowania nowego produktu leczniczego.

Celem naukowym doświadczenia jest:

Głównym celem planowanych badań, jest uzyskanie danych farmakokinetycznych pozwalających na wybranie spośród dwóch badanych związków kandydata na lek o najbardziej korzystnym profilu farmakokinetycznym.

Wyznaczenie parametrów farmakokinetycznych inhibitorów fosfodiesterazy 10, jako potencjalnych leków mogących znaleźć zastosowanie w leczeniu chorób ośrodkowego układu nerwowego, jest niezbędne do wybrania związku wiodącego, który będzie mógł zostać zakwalifikowany do zaawansowanych badań przedklinicznych i klinicznych.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Szczur wędrowny (*Rattus norvegicus*), stado outbredowe Wistar Crl:WI(Han) – 90 osobników

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Zasada ograniczenia

- liczba zaplanowanych do wykorzystania zwierząt jest najniższa z punktu widzenia statystycznej weryfikacji wyników i została ustalona w oparciu o literaturę naukową^{5,6,7,11} oraz wieloletnie doświadczenie badaczy,
- w zaplanowanym badaniu przebadane będą tylko związki, które wcześniej przeszły badania *in vitro* (zgodnie z zasadą zastąpienia) co znacznie obniża liczbę zwierząt, niezbędnych do przeprowadzenia badania profilu farmakokinetycznego w trakcie prowadzenia badań wyboru kandydata na lek,
- brak konieczności stosowania grupy kontrolnej ograniczy liczbę zwierząt koniecznych do przeprowadzenia badań z ich użyciem,

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

- ograniczenie do niezbędnego minimum ilości punktów czasowych w celu uzyskania pełnego profilu farmakokinetycznego stężeń związku w miejscu docelowego działania (mózgu).

Zasada zastąpienia

W ramach badań wstępnych zostały przeprowadzone badania *in vitro* potwierdzające aktywność inhibitorów PDE10A i wybór do badań na zwierzętach tylko związków aktywnych *in vitro*:

- testy wiązania z celem molekularnym zarówno bezpośrednio (wyznaczanie wartości inhibicji IC₅₀) jak również pośrednio, metodą ELISA dla cyklicznych nukleotydów jak i metodą western blot, poprzez analizę szlaków komórkowych związanych ze ścieżką sygnalizacyjną zależną od cyklicznych nukleotydów.
- badanie aktywności w hodowlanach neuronów pierwotnych metodą luminescencji lucyferazy i metodą Western blot,

Oprócz testów potwierdzających aktywność nowych molekuł prowadzono również testy *in vitro* potwierdzające ich bezpieczeństwo takie jak:

- testy proliferacyjne i cytotoksyczne zarówno na komórkach 293 oraz hodowlach neuronów pierwotnych,
- wpływu na kanał hERG – możliwy wpływ na wydłużanie odcinka QT
- wpływ cytotoksyczny na organoidy złożone z miocytów
- selektywności wobec innych receptorów metodą wypierania radioligandów

Dzięki wstępnej selekcji nowych związków w szeregu testów *in vitro* do badań z wykorzystaniem zwierząt trafiają tylko wyselekcjonowane struktury – dwa związki 500-036 i 500-148 o potwierdzonym mechanizmie działania.

Przeprowadzenie doświadczeń bez udziału zwierząt, nie jest możliwe w przypadku badań dotyczących przedklinicznego rozwoju leków, gdyż nie istnieją modele *in vitro* odwzorowujące złożoność procesów, którym podlegają testowane substancje w żywym organizmie: procesy rozpuszczania, wchłaniania, transportu aktywnego i pasywnego, metabolizmu, wydalania w postaci niezmienionej itp. Biorąc pod uwagę, że badane związki w zamysłu mają być lekami podawanymi ludziom istnieje wymóg przeprowadzenia eksperymentów na zwierzętach, zanim poda się je człowiekowi.

Zasada udoskonalenia

Powyższe badania zaplanowane tak, by maksymalnie zminimalizować ból i cierpienie zwierząt. Pobieranie krwi dokonuje się przy użyciu środka przeciwbólowego, a dożylną iniekcję w znieczuleniu ogólnym. Jednokrotne podanie badanej substancji, minimalizuje negatywny wpływ na organizm zwierzęcia. Czas trwania procedur jest możliwie najkrótszy, by zminimalizować ból zwierząt, zapewniający jednak uzyskanie wiarygodnych wyników.

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.