

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1.Tytuł projektu: Badania farmakokinetyczno-farmakodynamiczne nad nowymi inhibitorami fosfodiesterazy 7

2.Czas trwania projektu 3 lata

3.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) choroby autoimmunologiczne, inhibitory PDE7, farmakokinetyka, dystrybucja do tkanek

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

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.

Inhibitory fosfodiesterazy 7 (PDE7) są testowane w wielu ośrodkach pod kątem ich zastosowania w leczeniu chorób neurodegeneratywnych, takich jak: choroba Alzheimera, choroba Parkinsona, czy stwardnienie rozsiane. Do tej pory jednak żaden z nich nie został skierowany do badań klinicznych. Z danych literaturowych wynika, że większość badań nad tymi związkami ograniczała się do eksperymentów farmakologicznych w modelach zwierzęcych ww. chorób. W pracach tych nie badano właściwości farmakokinetycznych tych związków ani zależności stężenie-efekt po ich podaniu.

Celem planowanych badań jest ocena farmakokinetyki nowych inhibitorów PDE7 u myszy i szczurów obydwu płci, po podaniu dożylnym, dożołądkowym i dootrzewnowym. Ponadto przeprowadzone zostaną badania farmakodynamiczne celem oceny skuteczności związku o najkorzystniejszych właściwościach farmakokinetycznych w eksperymentalnych modelach wybranych chorób autoimmunologicznych.

Inhibitory PDE7, które zostaną poddane badaniom charakteryzują się wysoką aktywnością farmakologiczną potwierdzoną w badaniach *in vitro*. W pierwszym etapie badań zostaną wyznaczone parametry farmakokinetyczne badanych związków, w tym dostępność biologiczna po podaniu pozanaczyniowym oraz oceniona zostanie ich dystrybucja do tkanek i płynów ustrojowych zwierząt, także tych związanych ze spodziewanym miejscem działania. Aktywność farmakologiczna *in vivo* związku o najkorzystniejszych właściwościach farmakokinetycznych zostanie oceniona w eksperymentalnych modelach wybranych chorób autoimmunologicznych, takich jak: stwardnienie rozsiane, reumatoidalne zapalenie stawów oraz autoimmunologiczne zapalenie wątroby. Pomimo tego, że procedury związane z wywołaniem ww. chorób u zwierząt cechuje wysoka kategoria dotkliwości, tego typu badania są ważne i niezbędne, z powodu dużej częstości występowania tych chorób u ludzi oraz braku skutecznych terapii w przypadku większości z nich.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniu planowane jest wykorzystanie szczurów: 118 samic i samców szczepu Wistar i 45 samic szczepu Lewis (łącznie 163) oraz myszy: 195 samic i samców szczepu CD-1, 45 samic rasy C57BL/6 oraz 45 samic rasy BALB/c (łącznie 285 osobników). Zwierzęta zostaną wykorzystane do badań farmakokinetycznych nad nowymi inhibitorami PDE7 oraz do wywołania chorób autoimmunologicznych.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: EBSCO; PUBMED; ScienceDirect; Web of Science. Wykorzystałam następujące słowa kluczowe: pharmacokinetics, PDE7 inhibitors, autoimmune diseases, collagen-induced arthritis, autoimmune encephalomyelitis i autoimmune hepatitis. Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam, że w opublikowanych materiałach brak jest informacji na temat właściwości farmakokinetycznych oraz dystrybucji do tkanek inhibitorów PDE7, nie ma też żadnych informacji na temat metod alternatywnych dla modeli chorobowych, które mają być stosowane w eksperymencie. Proponowana w badaniach liczba zwierząt jest najmniejsza z możliwych do przeprowadzenia prawidłowej

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

analizy farmakokinetycznej i statystycznej uzyskanych danych. Szczur i mysz to zwierzęta o najniższym możliwym poziomie rozwoju, dla których można przeprowadzać wartościowe badania farmakokinetyczne. Ze względu na konieczność oceny w eksperymencie przenikania badanych związków do miejsca działania (płyn mózgowo rdzeniowy, płyn stawowy) oraz potrzebę uzyskania danych do opracowania modelu fizjologicznego, który pozwoli na przewidywanie stężeń badanych związków u ludzi, istnieje potrzeba uśmiercenia zwierząt po podaniu dożylnym, a w przypadku myszy, ze względu na małą objętość krwi do badań i niemożność kaniulacji żyły szyjnej, także po podaniu na innych drogach. Zastosowanie w eksperymencie kaniulacji, czyli wszczepienia cewnika do żyły szyjnej szczura, pozwoli na ograniczenie liczby zwierząt. Kaniulacja daje możliwość pobierania wielu niewielkich próbek krwi w różnych punktach czasowych od chwili podania związków badanych. Dzięki temu, od jednego zwierzęcia można pozyskać cały profil farmakokinetyczny, więc wyniki badań są bardziej powtarzalne, co skutkuje możliwością ograniczenia liczebności próby badanej. W przypadku myszy konieczne jest poświęcenie co najmniej 3 osobników na każdy punkt czasowy. Taka liczba zwierząt jest minimalna ze względu na statystyczną wiarygodność uzyskanych wyników. W celu zniwelowania odczuwania bólu oraz dystresu w czasie zabiegu kaniulacji i bezpośrednio po nim użyte zostaną środki znieczulenia ogólnego oraz przeciwbólowe, takie jak: ketamina, ksylazyna oraz buprenorfina. Przedstawione we wniosku procedury związane z wywołaniem modeli chorobowych są szeroko stosowane w wielu laboratoriach na całym świecie w badaniach mających na celu poszukiwanie nowych terapii autoimmunologicznego zapalenia wątroby, reumatoidalnego zapalenia stawów oraz stwardnienia rozsianego. Liczba zwierząt planowana w tym eksperymencie jest najmniejsza z możliwych z punktu widzenia statystycznej oceny wyników. Co więcej, w badaniach farmakologicznych testowany będzie tylko jeden związek, wytypowany na podstawie wyników badań farmakokinetycznych. Patogeneza chorób z autoagresji jest bardzo złożona i nie została jeszcze dokładnie poznana. Ze względu na wielopłaszczyznowość zjawisk zachodzących w tych chorobach, badania *in vitro* dostarczają jedynie orientacyjnych danych, które należy zweryfikować na żywym organizmie. Wprawdzie procedury związane z wywołaniem w/w chorób należy zaliczyć do wysokiej kategorii dotkliwości, jednak rozwijający się w wyniku tych procedur stan chorobowy nie wiąże się z silnym bólem czy stresem, a jedynie z poczuciem dyskomfortu.