NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1.Tytuł projekt Badania ośrodkowej aktywności farmakologicznej nowozsyntetyzowanych związków – piperazynowych pochodnych hetero – i arylokarbonyloksyaminopropanolu – na myszach stada *Swiss*

2.Czas trwania projektu 01.02.2020 – 12.12.2024

3.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) serotonina, lęk, depresja, schizofrenia, pamięć

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.

β-blokery są powszechnie wykorzystywane w terapii schorzeń sercowo-naczyniowych. Cechują się dużą skutecznością, wysokim indeksem terapeutycznym oraz stosunkowo dobrą tolerancją wśród pacjentów, także starszych.

Badane związki należą do piperazynowych pochodnych hetero- i/lub arylokarbonyloksyloaminopropranolu, a ich cząsteczka wyjściowa jest strukturalnie zbliżona do macierzystej struktury β-blokerów. Fakt ten sugeruje ich wpływ na układ sercowo-naczyniowy. Sugeruje się także potencjalne działania ośrodkowe związków o podobnej strukturze. Co więcej, wyniki modelowania molekularnego wskazują na zdolność badanych związków do hamowania aktywności acetylocholinesterazy (AChE) – enzymu stanowiącego punkt uchwytu w terapii zespołów demencyjnych i choroby Alzheimera.

Celem niniejszego projektu jest określenie aktywności ośrodkowej związków otrzymanych metodą syntezy chemicznej w laboratorium Zakładu Chemii Leków Uniwersytetu Weterynarii i Nauk Farmaceutycznych (VFU) w Brnie (Czechy). Testy behawioralne, wykonywane na myszach domowych stada *Swiss,* pozwolą określić profil i mechanizm działań ośrodkowych, szczególnie poprzez takie układy neuroprzekaźnikowe jak serotoninowy, adrenergiczny i cholinergicznych (po wcześniejszym określeniu metodami *in vitro* ich powinowactwa do receptorów poszczególnych układów neuroprzekaźnikowych). Doświadczenia obejmują: wyznaczenie dawki efektywnej oraz wykazanie wpływu substancji na ruchliwość, koordynację ruchową, lęk, pamięć i zdolność uczenia się zachowania depresyjne, objawy wytwórcze schizofrenii oraz określenie wpływu na receptory

serotoninowe 5-HT_{1A} i 5-HT_{2A}. Uzyskane wyniki posłużą do oceny potencjalnych, ośrodkowych działań niepożądanych u pacjentów przyjmujących badane związki jako leki nasercowe i hipotensyjne. Będą też stanowić materiał wyjściowy do głębszej analizy i poszerzenia badań w kierunku zastosowania leków, w oparciu o wyznaczoną wcześniej budowę chemiczną, w farmakoterapii schorzeń neuro-psychiatrycznych, poszukiwanie nowych alternatywnych punktów ich uchwytu oraz nieopisywanych do tej pory działań ośrodkowych.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Samce myszy domowej stada *Swiss* w ilości 1208.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA[1]

Zasada zastąpienia:

Nie jest możliwe zrealizowanie celów niniejszego projektu bez użycia zwierząt laboratoryjnych. Jak dotąd nie powstały modele *in vitro*, które pozwoliłyby określić wpływ badanych związków na działanie ośrodkowego układu nerwowego. Niewskazane jest także zastąpienie gryzoni zwierzętami o niższym stopniu ewolucyjnym, bowiem istnieje ryzyko, że uzyskane wyniki nie okażą się wiarygodne oraz nie będzie można odnieść ich do problemów klinicznych obserwowanych u ludzi.

Zasada ograniczenia:

Projekt zakłada stworzenie grup doświadczalnych liczących po 8 osobników. Jest to najmniejsza, bezpieczna ilość zwierząt, która pozwoli uzyskać istotność statystyczną, nawet w przypadku konieczności odrzucenia wyniku. Minimalizacja liczby zwierząt jest możliwa także dzięki znacznemu ograniczeniu zmienności wśród zwierząt przez stały mikroklimat – w czasie doświadczenia oraz jednorodności wieku, płci i masy ciała.

Dawki badanych zostały wybrane po dokładnym przeglądzie literatury, aby uniknąć wyznaczenia LD50 (*dosis lethalis*).

Aby ograniczyć ilość myszy domowych, testy na spontaniczną aktywność lokomotoryczną, ruchliwość indukowaną amfetaminą, komina i pręta obrotowego będą wykonane na tych samych zwierzętach. Testy te są mało inwazyjne oraz nie trwają długo w czasie, dzięki czemu zachowana jest podobna kinetyka związków. Testy podniesionego labiryntu krzyżowego i wymuszonego pływania zostaną przeprowadzone na tych samych zwierzętach i będą wykonywane jeden po drugim w tym samym dniu. Pomiar ciepłoty ciała oraz test potrząsania głową będą wykonywane na tych samym myszach domowych, ale z zachowaniem kilkudniowego odstępu między doświadczeniami. Testy rozpoznawania nowego przedmiotu i biernego unikania również zostaną przeprowadzone na tej samych grupach zwierząt, także z zachowaniem kilkudniowej przerwy między badaniami.

Testy na aktywność lokomotoryczną i koordynację ruchową pozwolą odrzucić dawki, które zaburzają funkcję motoryczną u zwierząt, przyczyniając się do błędnych wyników w pozostałych testach. Odrzucenie dawek wiąże się ze zmniejszeniem ilości wykorzystywanych zwierząt.

Wszystkie substancje przed przystąpieniem do badań behawioralnych zostały poddane badaniom *in vitro* (badania wiązania do receptorów występujących w ośrodkowym układzie nerwowym) i komputerowego modelingu molekularnego, dzięki czemu do doświadczeń behawioralnych zostały wybrane tylko związki o najwyższym potencjale aktywności biologicznej oraz najciekawszym profilu selektywności. Dzięki temu udało się znacznie ograniczyć liczbę grup zwierząt badanych w testach behawioralnych.

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

Zasada udoskonalenia:

Niniejszy projekt badań obejmuje doświadczenia zaplanowane w taki sposób, aby maksymalnie ograniczyć cierpienie, ból i dystres zwierząt.

Zastosowanie jednopłciowej grupy badawczej pozwoli uniknąć rywalizacji samców o samice oraz zredukuje ilość zmiennych (np. płeć) na możliwy rozrzut otrzymanych wyników.

Zwierzęta w całym okresie doświadczalnym będą przebywać pod opieką doświadczonego personelu (w tym lekarza weterynarii) w ściśle określonych warunkach laboratoryjnych (dostęp do żywności i wody pitnej, wilgotność, temperatura).

W trakcie doświadczenia, gdy stan zdrowia zwierząt wskazuje na nieuchronnie zbliżającą się śmierć, planowane jest wczesne i humanitarne zakończenie procedury (*hummane endpoint*). W ramach wybranych metod (doświadczalnych) należy, w możliwie największym stopniu, unikać śmierci jako punktu końcowego, ze względu na ciężkie cierpienie doświadczane w okresie przed śmiercią. O ile to możliwe, należy ją zastąpić bardziej humanitarnymi punktami końcowymi, opierając się na objawach klinicznych, które są oznaką nieuchronnie zbliżającej się śmierci, co pozwoli na uśmiercenie zwierzęcia bez jakiegokolwiek dalszego cierpienia. Objawami klinicznymi wyznaczającymi rozpoczęcie tego postępowania mogą być: brak odpowiedzi na bodźce, niemożność przyjmowania jedzenia i picia, objawy odwodnienia lub wykrwawienie, niewydolność narządowa, drgawki, hipotermia, zaburzenia równowagi i nieprawidłowa postawa ciała, otwarte rany, bezdech, szybki ubytek masy, biegunka, anuria, paraliż, wokalizacja, zmiany nowotworowe.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną[2]

- [X] 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.