

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

Tytuł projektu: Anilidowe pochodne długołańcuchowych amin cyklicznych jako wielofunkcyjne ligandy receptorów serotoninowych i inhibitory fosfodiesterazy 7 o potencjalnym zastosowaniu w terapii zaburzeń poznawczych i depresyjnych w chorobie Alzheimera

1. Czas trwania projektu 33 miesiące

2. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) fosfodiesterazy, receptory serotoninowe, choroba Alzheimera

3. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) A. Badania podstawowe [PB3] układ nerwowy

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.

Celem niniejszego projektu jest zbadanie aktywności ośrodkowej 3 nowych związków, które poprzez jednoczesne hamowanie wybranego typu enzymu fosfodiesterazy oraz interakcję z określonymi receptorami serotoninerгіcznymi, mogą korzystnie wpłynąć na poprawę pamięci i zachowań emocjonalnych, które są zaburzone w przebiegu choroby Alzheimera.

Podejmowany temat badawczy dotyczący poszukiwania wielofunkcyjnych związków, które mogą poprawiać zaburzenia poznawcze i depresyjne w przebiegu demencji, w oparciu o mechanizmy zależne i niezależne od receptorów, stanowi mało poznany kierunek badawczy. Zaprojektowane związki stanowią naukowo oryginalne, nowe „narzędzia farmakologiczne”, które być może pozwolą na lepsze zrozumienie patomechanizmów procesów neurologicznych, związanych z pamięcią i regulacją nastroju. 3 związki, starannie wyselekcjonowane na podstawie wyników badań *in silico* i *in vitro*, zostaną

przekazane do badań *in vivo*. Związki te będą testowane w ogólnie uznanych i powszechnie stosowanych testach behawioralnych u gryzoni, które oparte są na obserwacji zachowania zwierząt. Wybrane do realizacji projektu metody badawcze zostały dobrane i zmodyfikowane tak, aby ograniczyć ból, cierpienie i dystres zwierząt doświadczalnych.

Wyniki planowanych badań mogą przyczynić się do wprowadzenia w przyszłości nowych leków o korzystniejszym działaniu i bardziej bezpiecznych dla pacjentów niż obecnie stosowane w terapii chorób o podłożu neurodegeneracyjnym.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Szczur wędrowny Wistar 294 osobników męskich

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: EBSCO; PUBMED; Google Scholar; ScienceDirect; Web of Science (JCR); Chemical Abstracts – SciFinder, Reaxys

Wykorzystałam słowa kluczowe:

W bazach Chemical Abstracts – SciFinder i Reaxys wprowadzono struktury chemiczne zaplanowanych do badań związków, w pozostałych bazach wykorzystano słowa kluczowe: Inhibitory PDE7 + nazwa chemiczna badanego związku, pamięć + nazwa chemiczna badanego związku, aktywność przeciwdepresyjna + nazwa chemiczna badanego związku

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że brak jest danych dotyczących: aktywności farmakologicznej zaplanowanych do badania związków chemicznych.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na rozwinięcie poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku aktywności farmakologicznej anilidowych pochodnych długołańcuchowych amin cyklicznych łączących aktywność ligandów receptorów serotoniny i inhibitorów fosfodiesterazy 7 o potencjalnym zastosowaniu w terapii zaburzeń poznawczych i depresyjnych w chorobie Alzheimera.

Proponowane we wniosku testy są podstawowymi metodami stosowanymi w badaniach substancji o potencjalnym działaniu przeciwdepresyjnym i poprawiającym pamięć. W badaniach behawioralnych nie jest możliwe zastąpienie zwierząt kręgowych innym materiałem.

Badania zostaną przeprowadzone dla 3 związków, wyselekcjonowanych z puli ok. 60 substancji w oparciu o badania *in silico* oraz *in vitro*. Test kontrolny zostanie wykonany jedynie dla aktywnych przeciwdepresyjnie dawek związków.

Powyższe testy umożliwiają uzyskanie powtarzalnych wyników, bez większych rozrzutów statystycznych, co przekłada się na stosunkowo niedużą liczbę zwierząt konieczną do użycia w grupach kontrolnych i badanych,

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

dlatego liczba zwierząt w grupach oraz liczba grup są najmniejsze z możliwych z punktu widzenia statystycznej weryfikacji wyników oraz ich wiarygodności.

Planowane metody badawcze cechują się łagodną kategorią dotkliwości.

Opisane metody są najbardziej humanitarne z możliwych do zastosowania i zostały udoskonalone tak, aby ograniczyć ból, cierpienie i dystres zwierząt doświadczalnych.

Sposób realizacji zasady 3R

1. Udoskonalenie

Zwierzęta

- a. Wykorzystywane zwierzęta (szczury) są utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku.
- b. Jednopłciowe grupy badawcze (samce) pozwolą na uniknięcie rywalizacji samców o samicę oraz zredukowanie liczby zmiennych (takich jak płeć) na możliwy rozrzut otrzymanych wyników.
- c. Zastosowanie właściwej diety; zwierzęta będą karmione certyfikowaną paszą bytową.
- d. Od pierwszego dnia procedury szczury będą przetrzymywane w klatkach o powierzchni min. 800 cm² i odpowiedniej wysokości (min 18 cm) po 4 osobniki, na ściółce niepyłącej z małą zawartością żywic.
- e. Stały kontakt i pomoc ze strony lekarza weterynarii pozwoli na zapewnienie odpowiednich warunków bytowych.

Pomieszczenie bytowe

- a. Zwierzęta będą przebywały w pomieszczeniu bytowym służącym tylko do tego celu, w którym nie będą wykonywane czynności takie jak: iniekcje, eksperyment, uśmiercanie.
- b. Pomieszczenie bytowe będzie oddzielone od pozostałych pomieszczeń co pozwoli na redukcję hałasu. Będzie to pomieszczenie wyposażone w stały system monitorowania temperatury i wilgotności, a także zapewniające cykl świetlny (12h ciemności i 12 h światła).
- c. Pokój odizolowany od części, w której wykonuje się analizy chemiczne pozwoli na ograniczenie prawdopodobieństwa narażenia na silne, nowe zapachy (chemikalia).

Pomieszczenie eksperymentalne i przygotowań

- a. Czynności takie jak iniekcje badanych substancji, będą wykonane w pokoju przygotowań, a właściwe testy w pokoju eksperymentalnym.

Metoda

- a. Zastosowane metody badawcze zostały wybrane tak aby ograniczyć do minimum albo eliminować ból, cierpienie, dystres.
- b. Opracowane instrukcje postępowania zapewnią ich regularny i powtarzalny sposób wykonania co ograniczy stres zwierząt.
- c. Wszystkie czynności będą wykonywane przez znanego zwierzętom i doświadczanego eksperymentatora lub osobę uczestniczącą.
- d. Podawane zwierzętom w trakcie doświadczenia roztwory będą miały temperaturę zbliżoną do temperatury ciała szczura co zapewni uniknięcie szoku temperaturowego i uczucia dyskomfortu.

- e. Badane substancje będą rozpuszczane w 1% roztworze Tween 80.
- f. Po zakończeniu każdej procedury zwierzęta zostaną uśmiercone przez zastosowanie odpowiedniej metody tj. inhalacja stężeniem CO₂ (stężenie powyżej 70%, metoda stopniowego napełniania) w ciągu 5 minut.
- g. Opiekun zostanie szczegółowo poinformowany przez eksperymentatora o ewentualnych objawach bólu, stresu, dyskomfortu zwierząt wymagających humanitarnego zakończenia procedury.
- h. Eksperymentator zgłasza pełną gotowość do przeprowadzenia zabiegu uśmiercania w przypadkach nagłych przez zastosowanie humanitarnej procedury uśmiercania.

2. Ograniczenie

- a. Liczba zaplanowanych do wykorzystania zwierząt jest najniższa z punktu widzenia statystycznej weryfikacji wyników i została ustalona w oparciu o literaturę naukową oraz wieloletnie doświadczenie badaczy. Szczury Wistar to szczepy wsobne. Zapewnia to powtarzalność pomiarów i minimalizuje zmienność pozwalając na ograniczenie ilości wykorzystywanych zwierząt do niezbędnego minimum.
- b. Zastosowane modele badawcze zostały odpowiednio dobrane i zwalidowane w naszym laboratorium. Zapewnia to powtarzalność pomiarów i minimalizuje zmienność pozwalając na ograniczenie liczby wykorzystywanych zwierząt do niezbędnego minimum.
- c. Na ograniczenie liczby wykorzystanych zwierząt pozwalają także inne czynności minimalizujące zmienność i zwiększające powtarzalność pomiarów takie jak: stabilna pasza; zrównoważone środowisko; jednorodność grup badanych pod względem wieku, masy ciała oraz płci (samce); równy okres kwarantanny; ten sam/znany eksperymentator, zachowanie reżimu czasowego procedur.
- d. Precyzyjna i przemyślana grupa kontrolna z użyciem wypróbowanego nośnika poprawia jakość i dokładność wyników, co pozwala na zmniejszenie liczby wykorzystanych zwierząt.

3. Zastąpienie

- a. W celu zweryfikowania hipotezy badawczej nie można zastosować metody w której nie jest konieczne wykorzystanie zwierząt. W badaniach behawioralnych nie jest możliwe zastąpienie zwierząt kręgowych innym materiałem.
- b. Zastosowanie zwierząt w planowanym doświadczeniu pozwoli na poznanie działania badanych substancji na cały organizm i będące podstawą jego funkcjonowania tkanki, a także wzajemne interakcje między nimi. Jest to niemożliwe przy zastosowaniu procedur *in vitro* takich jak m.in. hodowle tkankowe.
- c. Planowane badania należą do grupy badań podstawowych mających na celu poznanie mechanizmów działania badanych związków, stąd też nie ma możliwości zastąpienia zwierząt metodami alternatywnymi (metody alternatywne opierają się na już poznanych mechanizmach).

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.

☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy

☒ NIE