

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Ocena działania inhibitora PDE10A w ośrodkowym układzie nerwowym szczura**

2. Czas trwania projektu 01.09.2018 do 01.09.2019

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

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.

Ogólny opis doświadczenia:

Schizofrenia dotyka 2-3 % populacji światowej. Pacjenci przejawiają szeroki zakres objawów, które można podzielić na trzy kategorie: pozytywne (halucynacje, urojenia), negatywne (wycofanie społeczne, ubóstwo mowy) i zaburzenia poznawcze. Obecne leczenie schizofrenii pozwala kontrolować objawy pozytywne, ale możliwości ograniczenia objawów negatywnych i deficytów poznawczych są wciąż ograniczone. Nadzieją na leczenie objawów negatywnych jest nowa klasa substancji, które wpływają na aktywność enzymu fosfodiesterazy 10A (PDE10A).

Białko fosfodiesteraza10 (PDE10A) ulega znaczącej ekspresji jedynie w neuronach w prążkowi w mózgu. W przypadku zahamowania tego białka zwiększeniu ulega ilości wewnątrzkomórkowych

przekazników sygnałowych, cAMP i cGMP, co w przypadku nieprawidłowości doprowadza do prawidłowej synchronizacji działania tych neuronów. Unormowanie ich pracy może pozytywnie wpływać na leczenie zarówno objawów pozytywnych w schizofrenii oraz na funkcje poznawcze pacjentów i objawy negatywne.

Istnieją opracowane specyficzne i selektywne drobnocząsteczkowe inhibitory PDE10A. Wyniki badań in vitro potwierdziły ich aktywność i pozwoliły na wybranie wiodących substancji do dalszych badań. W celu dalszego rozwoju nowego najbardziej obiecującego inhibitora PDE10A jako nowej terapii w schizofrenii, niezbędne jest potwierdzenie ich aktywności in vivo.

Celem naukowym doświadczenia jest:

uzyskanie danych pozwalających na ocenę skuteczności nowego inhibitora PDE10A – ocenę fosforylacji białek-celów molekularnych PDE10A.

Wyznaczenie parametrów farmakodynamicznych inhibitorów fosfodiesterazy 10 może pomóc w potwierdzeniu ich przydatności jako potencjalnych leków mogących znaleźć zastosowanie w leczeniu chorób ośrodkowego układu nerwowego.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Szczur wędrowny

Szczur wędrowny *Rattus norvegicus* (**Sprague Dawley** Tac:Cmd:SD) – 40 osobników

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam/sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych:

PUBMED; ScienceDirect; ClinicalTrials.gov; Espacenet (Patent search)

Wykorzystałam/Wykorzystałem słowa kluczowe: Fosfodiesteraza10, inhibicja PDE10A

Na podstawie istniejącej literatury, stwierdzam że prowadzony projekt rozwoju inhibitorów PDE10A jest unikatowy. Dalsze badania mają na celu wytypowanie struktury, o najlepszej biodostępności i najlepszym działaniu hamującym PDE10A.

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

Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że:

Nie ma zarejestrowanych produktów leczniczych, wykorzystujących zaproponowany przez wnioskodawcę mechanizm działania (inhibitor PDE10A).

W oparciu o dostępną wiedzę stwierdzamy, że związki wykazują wyższą efektywność w badaniach *in vitro* (analiza oddziaływania z receptorem, testy z wykorzystaniem modeli komórkowych).

Brak jest danych dotyczących: badań *in vivo* oceniających farmakodynamikę badanych związków.

Ograniczone są dane dotyczące badań farmakodynamicznych inhibitorów PDE10A.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na: wytypowanie związku do badań toksykologicznych i klinicznych oraz ocenę skuteczności badanych substancji. Całe przedsięwzięcie daje nadzieję na opracowanie bezpiecznej dla pacjentów terapii.

Realizacja projektu, oprócz szansy na opracowanie molekuly o działaniu antypsychotycznym i prokognitywnym jak i o potencjalnym zastosowaniu w chorobie Huntingtona, to również **rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy** z zakresu terapii, bezpieczeństwa leków i procesu wytwarzania.

Wyniki realizowanych badań będą przedmiotem publikacji naukowych oraz wystąpień na konferencjach.

Uwzględnienie zasad zastąpienia, ograniczenia i udoskonalenia (3R):

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,

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 hodowlach 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 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 zamyśle mają być lekami podawanymi ludziom istnieje wymóg przeprowadzenia eksperymentów na zwierzętach, zanim poda się je człowiekowi.

Planowane badanie należy do grupy badań podstawowych mających na celu zbadanie wpływu całego organizmu na podawaną substancję, stąd też nie ma możliwości zastąpienia zwierząt modelami alternatywnymi.

Zasada udoskonalenia

Powyższe badania zaplanowane tak, by maksymalnie zminimalizować ból i cierpienie zwierząt. Jednokrotne podanie badanej substancji, jak również dawka, minimalizują negatywny wpływ na organizm zwierzęcia. Czas trwania procedur jest możliwie najkrótszy, by zminimalizować ból zwierząt, zapewniający jednak uzyskanie wiarygodnych wyników.

Jednostka przeprowadzająca w ramach wnioskowanego badania z wykorzystaniem zwierząt podnosi stale kwalifikacji personelu zwierzętarni (wszyscy pracownicy przechodzą szkolenia doskonalące umiejętności i podnoszenie kompetencji co pozwala na eliminowanie błędów)

Zwierzęta będą miały też zapewniony, zgodnie z wytycznymi Dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady 2010/63/UE oraz nowej Ustawy z dn. 15 stycznia 2015r o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych lub edukacyjnych, wysoki standard życia, odpowiednie warunki bytowe i urozmaicone środowisko chroniące przed nudą (papierowe rolki służące do zabawy i jako schronienie).

Wnioskodawca stale śledzi literaturę w zakresie badań wykorzystujących zwierzęta do badań określających aktywność różnych molekuł o podobnym mechanizmie działania jak również w zakresie dobrostanu i stosowania humanitarnych punktów końcowych. Takie podejście umożliwia planowanie badań w sposób ograniczający stres i cierpienie zwierząt, a jednocześnie pozwala na uzyskiwanie wiarygodnych wyników badań.

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.