

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: „Badanie biologicznej aktywności i ocena farmakokinetyki wybranych wariantów białka FGF1 na mysim modelu cukrzycy typu 2, jako potencjalnych leków przeciwcukrzycowych.”

2. Czas trwania projektu: 3 lata

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): leki przeciwcukrzycowe, cukrzyca typu 2, FGF1 (ang. *fibroblast growth factor 1*)

4. Cel projektu (art. 3 ustawy): B, badania translacyjne lub stosowane, rodzaj: zaburzenia układu wewnątrzwydzielniczego lub zaburzenia metabolizmu u człowieka.

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.

Głównym celem zaplanowanych badań, w ramach prowadzonego w jednostce projektu, jest pozyskanie danych na temat przeciwcukrzycowej aktywności testowanych białek oraz wybór molekuly wiodącej, która przekazana zostanie do zaawansowanych badań toksykologicznych (w standardzie GLP), koniecznych do skompletowania dokumentacji IMPD (ang. *Investigational Medicinal Product Dossier*) i rozpoczęcia badań klinicznych. Realizacja projektu niesie szansę na wprowadzenie nowej, skutecznej terapii opartej o analogii białka FGF1. Badania nad białkiem FGF1 dowodzą możliwości zastosowania go w terapii cukrzycy. Aktywacja receptora FGFR1, poprzez białko FGF1, w komórkach adipocytów oraz komórkach mięśniowych powoduje, że już po jednorazowym podaniu białka uzyskujemy istotnie statystycznie efekt obniżenia poziomu glukozy w surowicy utrzymujący się do ok. 96 godzin. Naturalne białko FGF1 jest jednak wysoce niestabilne w temperaturze fizjologicznej i posiada właściwości mitogenne. Poszukiwane są więc takie izoformy białka FGF1, które nie tylko będą charakteryzować się wysoką aktywnością przeciwcukrzycową, ale też zwiększoną stabilnością i zmniejszonymi właściwościami mitogennymi niż naturalne białko. W badaniach przedklinicznych *in vitro* wyselekcjonowaliśmy preparaty będące izoformami/mutantami białka FGF1 o pożądanych przez nas właściwościach, do kolejnych badań przedklinicznych na zwierzętach. W procedurze 1 myszy

cukrzycowe otrzymają podskórnie wybrane izoformy białka FGF1, a następnie w określonych punktach czasowych będą miały pobieraną kroplę krwi z żyły ogonowej, która naniesiona zostanie na pasek glukometru celem oceny poziomu stężenia glukozy. Po upływie 1tyg. myszom zostaną podane podskórnie i dożylnie, wytypowane w procedurze 1, białka o największej aktywności przeciwcukrzycowej, celem oceny ich profilu farmakokinetycznego (procedura 2). Krew do badań farmakokinetycznych zostanie pobrana od myszy w wyznaczonych punktach czasowych. Po zakończeniu procedury 2 zwierzęta zostaną uśmiercone.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Zwierzęta laboratoryjne: 400szt, mysz domowa (*Mus musculus*), szczep wsobny *db/db* (BKS.Cg-+Lepr *db/+Lepr db/*)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

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

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

Wykorzystałam słowa kluczowe:

FGF1 (ang. fibroblast growth factor 1)/Diabetes mellitus/ FGF1 analog/ FGF1 analog AND Diabetes mellitus AND clinical trial/ FGF1 analog AND Diabetes mellitus AND in vivo/FGF1 AND pharmacokinetic study.

Na podstawie istniejącej literatury stwierdzam, że:

prowadzony przez wnioskodawcę projekt rozwoju analogów białka FGF1 jest unikatowy. Na podstawie dostępnych danych literaturowych dotyczących właściwości i zakresu zastosowania molekuł o podobnym mechanizmie działania (np. analogi FGF21, przeciwciała anti-FGFR1) możemy prognozować, że mamy duży potencjał do wprowadzenia na rynek skuteczniejszego i bardziej bezpiecznego produktu, który będzie dostępny

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

dla szerokiego grona pacjentów. Prace nad tym projektem są prowadzone przez wnioskodawcę od 2016 roku w ramach dofinansowanego projektu, którego wymiernym efektem jest między innymi cząsteczka M9 (mutant 9) charakteryzująca się wysoką efektywnością w badaniach *in vitro* i *in vivo*. Dalsze badania mają na celu optymalizację wytypowanej struktury, w celu poprawy jej efektywności i zwiększenie bezpieczeństwa jej stosowania jak również dalsze poszukiwania białek, o jak najlepszej skuteczności.

Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że:

nie ma zarejestrowanych produktów leczniczych, wykorzystujących zaproponowany przez wnioskodawcę mechanizm działania (analog białka FGF1) oraz obecnie, żadna ze znanych firm farmaceutycznych nie prowadzi aktywnych poszukiwań wykorzystania białka FGF1 lub też jego analogów w leczeniu cukrzycy, dlatego też proponowane rozwiązanie, w wybranym wskazaniu, stanowi nowość w skali światowej. Opracowane przez nas struktury białkowe wykazują wysoką aktywność w badaniach *in vitro* (opisano szczegółowo w pkt 8 wniosku). Opracowana struktura wiodąca wymaga optymalizacji, w celu uzyskania struktur, które będą bardziej stabilne w osoczu, będą skutecznie aktywowały receptor dla FGF1 oraz będą pozbawione efektu proliferacyjnego.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

wytypowanie cząsteczek do badań toksykologicznych i klinicznych. Całe przedsięwzięcie daje nadzieję na opracowanie bezpiecznej dla pacjentów terapii przeciwcukrzycowej. Realizacja projektu, oprócz szansy na opracowanie molekuly o działaniu przeciwcukrzycowym, to również rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy z zakresu terapii, bezpieczeństwa leków i procesu wytwarzania. Pozyskane dane stanowiące wartość intelektualną firmy zostaną wykorzystane w procedurze ochrony praw patentowych, przyczyniając się do zwiększenia potencjału gospodarczego firmy i kraju. Wyniki realizowanych badań będą przedmiotem publikacji naukowych oraz wystąpień na konferencjach.

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

Zasada ograniczenia liczby wykorzystanych zwierząt do minimum została spełniona poprzez wybór gatunku zwierzęcia laboratoryjnego należącego do szczepu wsobnego, którego cechą jest jednorodność genetyczna osobników i powtarzalność uzyskiwanych wyników w obrębie badanej grupy. Ze względu na to, że procedura 1 jest procedurą łagodną i nie kończy się uśmierceniem zwierzęcia, wykorzystamy te same zwierzęta do procedury 2, co pozwoli na ograniczenie/zmniejszenie o połowę liczby wykorzystanych w doświadczeniu zwierząt. Badanie będzie realizowane w sprawdzonym ośrodku, który posiada wieloletnie doświadczenie w przeprowadzaniu tego typu doświadczeń oraz wysoko wykwalifikowaną kadrę, co zapewni właściwe obchodzenie się ze zwierzętami w trakcie eksperymentów, zminimalizuje ryzyko potrzeby powtórzenia badania i użycia większej niż niezbędna liczby zwierząt.

Zasada zastąpienia badań na zwierzętach, metodami bez ich udziału, nie jest w tym przypadku do końca możliwa. Nie istnieją modele *in vitro* odwzorowujące złożoność procesów, którym podlegają testowane substancje w żywym organizmie. Biorąc pod uwagę, że badane preparaty w zamyśle mają być lekami podawanymi ludziom, wymóg przeprowadzenia serii eksperymentów na zwierzętach, zanim poda się je ludziom, jest niezbędny. W ramach badań przedklinicznych zostały przeprowadzone badania przesiewowe *in vitro* dla wybranych struktur białkowych, potwierdzające ich przeciwcukrzycową aktywność (opisano szczegółowo w pkt 8 Wniosku).

Zasada doskonalenia badań na zwierzętach została spełniona m.in. poprzez podnoszenie kwalifikacji personelu zwierzętarni - pracownicy przeszli szkolenia merytoryczne i praktyczne doskonalące umiejętności i wiedzę z zakresu prowadzenia badań *in vivo*. Poza tym zwierzęta będą miały zapewniony, zgodnie z wytycznymi Dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady 2010/63/UE oraz nowej Ustawy z dn. 15 stycznia 2015r, wysoki standard życia, odpowiednie warunki bytowe i urozmaicone środowisko chroniące przed nudą (papierowe rolki służące do zabawy i jako schronienie). Wprowadzono również czynności mające na celu złagodzenie dotkliwości czynności pobierania krwi do oznaczeń stężenia cukru w badaniu TTG (zmniejszenie ilości pobieranej krwi na oznaczenie stężenia cukru do 1 kropli potrzebnej do oznaczenia na pasku glukometru). Badania porównawcze dotyczące oceny stężenia cukru we krwi dwiema różnymi metodami (bioanalyzer vs. glukometr) i spójność uzyskanych wyników potwierdziły zasadność zastosowania metody paskowej, do której potrzebujemy dużo mniej krwi od zwierzęcia niż na bioanalyzer (250ul vs. 1 kropla).

Najwyższy stopień dotkliwości procedur w zaplanowanym badaniu został zaklasyfikowany do kategorii „łagodne” – zwierzęta mogą doświadczyć krótkotrwałego łagodnego dystresu podczas unieruchomienia i podania im substancji (podskórnie lub dożylnie). Prawdopodobne szkody w postaci krótkotrwałego i łagodnego dystresu, które mogą być wyrządzone zwierzętom, będą zrównoważone oczekiwanymi korzyściami realizowanego projektu w postaci możliwości opracowania nowego produktu leczniczego (leku przeciwcukrzycowego).

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.