

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: **Badanie potencjalnego przeciwparkinsonowskiego i przeciwdyskinetycznego działania związku o akronimie CPL-500-036 w modelu jednostronnego uszkodzenia układu dopaminergicznego.**

2. Czas trwania projektu: **7,5 miesiąca**

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) **model choroby Parkinsona, dyskinezy po L-DOPA, inhibitor fosfodiesterazy 10, działanie przeciwparkinsonowskie, działanie przeciwdyskinetyczne**

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): **A. Badania podstawowe**

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.

Choroba Parkinsona jest nieuleczalną chorobą neurodegeneracyjną, której najlepszym dotychczasowym lekiem jest prekursor dopaminy - L-DOPA. Niestety, po kilku latach stosowania efekt L-DOPA słabnie, ponadto pojawiają się uciążliwe efekty uboczne - dyskinezy i fluktuacje „on-off”, polegające na częstych zmianach fazy, kiedy L-DOPA jest skuteczna - „on”, na fazę utraty jej skuteczności - „off”. Dlatego też poszukuje się nowych leków, które, podawane łącznie z L-DOPA, mogłyby osłabiać zarówno objawy choroby Parkinsona, jak i dyskinezy i fluktuacje po L-DOPA. Nasze poprzednie badania wykazały, że **CPL-500-036** - nowosyntetyzowany inhibitor fosfodiesterazy 10, enzymu występującego w prążkowie i regulującego poziom cAMP i cGMP, wykazywał działanie przeciwparkinsonowskie w modelu jednostronnego uszkodzenia szlaku dopaminergicznego u szczurów. Wykazaliśmy, że związek ten zmniejszał deficyty motoryczne, nasilał terapeutyczne działanie L-DOPA oraz zmniejszał fluktuacje. Obecnie planujemy kontynuację badań nad

przeciwparkinsonowskimi efektami CPL-500-036 w łącznych podaniach z L-DOPA celem uzyskania najlepszego efektu terapeutycznego oraz zamierzamy sprawdzić, czy CPL-500-036 wykazuje działanie przeciwdyskinetyczne. Eksperymenty zostaną przeprowadzone u szczurów rasy Wistar Han, którym zostanie jednostronnie uszkodzony szlak dopaminergiczny. Następnie w testach behawioralnych zostanie zbadany wpływ ostrych i przewlekłych podań w/w związku na deficyty motoryczne oraz dyskinezy wywołane przez L-DOPA. Po zakończonych doświadczeniach szczury zostaną zdekapitowane celem pobrania mózgów do badań biochemicznych.

## 6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

118 szczurów (*Rattus norvegicus*) Wistar-Han

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA<sup>1</sup>

### Zasada zastąpienia

CPL-500-036 jest związkiem nowosyntetyzowanym i jedynymi badaniami z jego użyciem przeprowadzonymi w kontekście potencjalnego działania przeciwparkinsonowskiego są nasze poprzednie doświadczenia, które wymagają jednakże kontynuacji celem optymalizacji jego dawek i warunków eksperymentu. Dane literaturowe (Beck i wsp. 2018, Mov. Disord. 33, 805-814) sugerowały ponadto, że inhibitory fosfodiesterazy mogłyby mieć znaczenie w osłabianiu dyskinez po L-DOPA. Nikt jednakże nie przebadał w tym ostatnim kontekście związku CPL-500-036. **Dlatego planowane badania są pionierskie.** Nie istnieje ponadto metoda pozwalająca na badanie tego problemu bez użycia zwierząt, bo jedynie w eksperymencie zwierzęcym możliwe jest wytworzenie modelowych objawów choroby Parkinsona oraz dyskinez po L-DOPA.

Badania dotyczą ośrodkowego układu nerwowego w odniesieniu do choroby występującej u ludzi, stąd konieczność wykorzystania zwierząt o porównywalnie wysoko zorganizowanym układzie nerwowym. Szczur jest takim właśnie gatunkiem i jest powszechnie wykorzystywany do poszukiwania związków, które mogłyby być użyte do leczenia choroby Parkinsona. **Wyniki uzyskane z planowanych badań wskażą, czy powyższe związki mogłyby stać się w przyszłości lekami skutecznymi w chorobie Parkinsona: do osłabiania objawów tej choroby oraz dyskinez po L-DOPA.**

### Zasada ograniczenia

Liczba planowanych zwierząt (118) dotyczy zwierząt operowanych. Natomiast po wykonaniu badań behawioralnych, których celem jest przyżyciowe określenie rozmiaru uszkodzenia, do dalszych badań z podaniami L-DOPA zostaną użyte jedynie te szczury (ok. 60 - 70%), u których to uszkodzenie było na tyle duże (>90%), żeby pojawiły się deficyty motoryczne. Dodatkowo, ponieważ nie wszystkie szczury rozwijają dyskinezy w wyniku przewlekłego podawania L-DOPA, szczury, które nie będą ich wykazywać, zostaną wyeliminowane z dalszych doświadczeń. Planuje się, że po eliminacji powyższych szczurów, liczebność grup we

<sup>1</sup> Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

właściwym eksperymencie z użyciem CPL-500-036 wyniesie ok. 10. Z wieloletniego doświadczenia Autorów wynika, że w przypadku testów behawioralnych liczba ta znajduje się na dolnej granicy potrzebnej do przeprowadzenia wiarygodnej analizy statystycznej eksperymentu. Pozostałe szczury będą poddane dekapitacji, celem biochemicznej weryfikacji wielkości uszkodzenia.

Ponadto, aby ograniczyć liczbę zwierząt – wszystkie testy będą wykonywane w różnym czasie na tych samych szczurach tzn., każdy szczur będzie stanowił własną kontrolę. Podobnie dla analiz biochemicznych strona nieuszkodzona będzie kontrolą dla strony uszkodzonej u tego samego zwierzęcia.

### **Zasada udoskonalenia**

Choroba Parkinsona jest chorobą rozwijającą się po obu stronach mózgu i dlatego istnieją modele z obustronnym podaniem toksyny – 6-hydroksydopaminy u szczurów. Jednakże obustronne uszkodzenie układu dopaminergicznego wywołane podaniem tej toksyny wiąże się z dużym cierpieniem zwierząt (bezruchem, afacją, adypsją, wielkimi ubytkami wagi) i dużą śmiertelnością. **Dlatego w obecnym projekcie uszkodzenie będzie wykonywane jedynie po jednej stronie mózgu, co nie powoduje dramatycznych zaburzeń u zwierząt:** szczury nie mają problemu z jedzeniem i piciem, okres rekonwalescencji po operacji wynosi ok. 2-4 dni, a po tym czasie szczury zachowują się normalnie, nie wykazują objawów chorobowych, przybierają na wadze, jak szczury nieoperowane, a ich deficyty motoryczne mogą być wykrywane tylko w testach behawioralnych. **Planowana procedura jest powszechnie używana i akceptowana na świecie.** Będą ponadto podjęte wszelkie starania zmniejszenia dotkliwości doświadczenia na każdym jego etapie poprzez łagodne odnoszenie się do zwierzęcia (handling), znieczulenie w trakcie operacji i opiekę pooperacyjną, częstą zmianę igieł iniekcyjnych, dokładne czyszczenie rotometrów i gilotyny do dekapitacji po każdym szczurze, aby zmniejszyć do minimum stres następnego zwierzęcia. Udoskonalenie będzie również związane z użyciem nowoczesnych metod biochemicznych określenia wielkości uszkodzenia w mózgach zwierząt i pomiaru poziomu cyklicznych nukleotydów.

### 8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną<sup>2</sup>

- ☒ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- ☐ NIE

---

<sup>2</sup> Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.