

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Triazynowe ligandy receptora serotoninowego 5-HT₆ – nowa perspektywa w terapii współczesnych chorób cywilizacyjnych – badania in vivo.

2. Czas trwania projektu 8 miesięcy

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) badania behawioralne, lęk, depresja, pamięć, antagoniści receptorów 5-HT₆

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.

Prowadzone badania przedkliniczne i kliniczne potwierdzają skuteczność antagonistów receptorów 5-HT₆ w leczeniu zaburzeń poznawczych związanych ze starzeniem się i chorobami neurodegeneracyjnymi (np. chorobą Alzheimera). Ponadto doniesienia literaturowe pokazują skuteczność terapeutyczną ligandów tego receptora w leczeniu schorzeń takich jak lęk, depresja czy schizofrenia oraz otyłość. W świetle najnowszych badań receptory 5-HT₆ zaangażowane są również w procesy związane z zasypianiem i budzeniem się, a także rozwojem uzależnienia od substancji psychoaktywnych. Kilka ligandów receptora 5-HT₆ zostało już zakwalifikowanych do badań klinicznych, a kilka znajduje się już w III fazie tych badań jako terapia dodana.

Celem realizowanego w projekcie zadania jest zbadanie właściwości przeciwdepresyjnych, prokognitywnych oraz przeciwłękowych związków będących nowymi antagonistami receptora 5-HT₆.

Do postulowanych w tym doświadczeniu testów *in vivo* zostanie zakwalifikowane wybrane 10 związków spośród ok 75 zsyntetyzowanych struktur, o najwyższym powinowactwie oraz selektywności wobec receptora 5-HT₆. Zostaną one poddane skryningowi farmakologicznemu w celu oceny ich potencjalnej aktywności przeciwdepresyjnej (test wymuszonego pływania), przeciwłękowej (test uniesionego labiryntu krzyżowego) oraz prokognitywnej (test rozpoznawania nowego obiektu). Dla najaktywniejszych związków w powyższych procedurach (max 5 substancji) przewiduje się badania poszerzonych badań farmakologicznych (test konfliktu wg Vogla, test wpływu na procesy pamięciowe z wykorzystaniem uniesionego labiryntu krzyżowego oraz potencjalizowania aktywności przeciwdepresyjnej wybranych leków przeciwdepresyjnych w teście wymuszonego pływania). Dodatkowo, w celu wykluczenia fałszywie dodatnich wyników, uzyskanych we wspomnianych powyżej testach, zostaną przeprowadzone badania kontrolne. Eksperymenty te będą przeprowadzone tylko dla aktywnych dawek badanych związków.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Szczury wędrowne Wistar Krf:(WI)WU samce, 822 osobniki

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

1. Udoskonalanie

Zwierzęta

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

Pomieszczenie bytowe

- Zwierzęta będą przebywały w pomieszczeniu bytowym służącym tylko do tego celu, w którym nie będą wykonywane czynności takie jak: iniekcje, eksperyment, uśmiercanie.

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

- 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)
- Pokój odizolowany od części w której wykonuje się analizy chemiczne pozwoli na ograniczenie prawdopodobieństwa narażenia na silne, nowe zapachy (chemikalia).

Pomieszczenie eksperymentalne i przygotowań

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

Metoda

- Zastosowane metody badawcze zostały wybrane tak aby ograniczyć do minimum albo eliminować ból, cierpienie, dystres.
- Opracowane instrukcje postępowania zapewnią ich regularny i powtarzalny sposób wykonania co ograniczy stres zwierząt.
- Wszystkie czynności będą wykonywane przez znanego zwierzętom i doświadczonemu eksperymentatorowi lub osobę uczestniczącą.
- Podawane zwierzętom w trakcie doświadczenia roztwory będą miały temperaturę zbliżoną do temperatury ciała szczura co zapewni uniknięcie szoku temperaturowego i uczucia dyskomfortu.
- Badane substancje będą rozpuszczane w soli fizjologicznej / 1% roztworze tween 80 / wodzie do iniekcji.
- Na końcu każdej procedury szczury zostaną uśmiercone przez zastosowanie odpowiedniej metody tj. inhalacja stężeniem CO₂ (stężenie powyżej 70%, metoda stopniowego napełniania) w ciągu 5 minut.
- Opiekun zostanie szczegółowo poinformowany przez eksperymentatora o ewentualnych objawach bólu, stresu, dyskomfortu zwierząt wymagających humanitarnego zakończenia procedury.
- Eksperymentator zgłasza pełną gotowość do przeprowadzenia zabiegu uśmiercania w przypadkach nagłych przez zastosowanie humanitarnej procedury uśmiercania.

2. Ograniczenie

- Liczba wykorzystanych zwierząt została ograniczona do poziomu niezbędnego do osiągnięcia celów, takich jak we wcześniejszych badaniach z wykorzystaniem postulowanych do wykonania procedur w których grupy badawcze liczyły adekwatną do liczebności wskazanej w przedkładanym wniosku.
- Zastosowany model badawczy został odpowiednio dobrany. Szczury Wistar Krf:(WI)WU to szczep wsobny. Zapewnia to powtarzalność pomiarów i minimalizuje zmienność pozwalając na ograniczenie

ilości wykorzystywanych zwierząt do niezbędnego minimum.

- Na ograniczenie ilości 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.

- Precyzyjna i przemyślana grupa kontrolna z użyciem nośnika (0.9 % NaCl / 1% roztwór tween 80 / woda do iniekcji) poprawia jakość i dokładność wyników, co pozwala na zmniejszenie ilości wykorzystanych zwierząt.

-zastosowany sprzęt pomiarowy w teście uniesionego labiryntu krzyżowego (Campden Instruments Ltd., Wielka Brytania zaopatrzony w fotokomórki, połączony z komputerem posiadającym oprogramowanie Motor Monitor System, umożliwiające automatyczne zliczanie danych) umożliwia jednocześnie wykonywanie oceny działania przeciwlękowego jak i wpływu na aktywność lokomotoryczną zwierząt, co pozwala na zmniejszenie ilości wykorzystanych zwierząt

3. Zastąpienie

- 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.

- 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* m in. hodowli tkankowych

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

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