

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: 7,8-dipodstawione pochodne teofiliny będące silnymi inhibitorami wybranych izoenzymów PDE, jako nowe związki o potencjale ograniczającym przebudowę drzewa oskrzelowego w astmie - badania w modelach in vitro i in vivo

2. Czas trwania projektu: 36 miesięcy

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): inhibitor PDE, astma oskrzelowa, zapalenie dróg oddechowych, przebudowa dróg oddechowych, farmakokinetyka

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.

Astma oskrzelowa jest przewlekłą chorobą zapalną dolnych dróg oddechowych. Główne objawy astmy to uciążliwy kaszel, ból w klatce piersiowej, świszczący oddech i duszność. Rozwój tej choroby związany jest przede wszystkim z przewlekłym stanem zapalnym toczącym się w oskrzelach chorego oraz skomplikowaną przebudową dróg oddechowych prowadzącą do powstania nieodwracalnych zmian w strukturze oskrzeli. Pomimo, że farmakoterapia astmy oskrzelowej obejmuje aktualnie wiele leków przeciwzapalnych i rozkurczowych, to przebudowa dróg oddechowych wciąż jest poważnym problemem, a potrzeba poszukiwania nowych, wielokierunkowo działających leków przeciwastmatycznych, niezwykle aktualna. Badania ostatnich lat wykazały, że związki będące inhibitorami fosfodiesteraz zasługują na szczególną uwagę w tym kontekście.

Celem naszego projektu jest ocena farmakokinetyki oraz skuteczności działania dwóch wyselekcjonowanych związków z grupy 7,8-dipodstawionych pochodnych teofiliny w mysim modelu przewlekłej astmy alergicznej. Dzięki oznaczeniu stężeń badanych związków, a także oceny ich dystrybucji tkankowej możliwe będzie przeprowadzenie analizy farmakokinetycznej/farmakodynamicznej. Zaproponowany model doświadczalny jest bardzo dobrze poznany, opisany i wykorzystywany w wielu renomowanych ośrodkach naukowych prowadzących badania nad astmą oskrzelową na całym świecie. Doświadczalne wywołanie przewlekłej astmy oskrzelowej u myszy nie wiąże się z pojawieniem się odczuwalnego bólu, ale może skutkować zmianą niektórych parametrów oddechowych, co z kolei może prowadzić do zmęczenia lub ograniczać łaknienie. Pomimo przeprowadzenia licznych analiz w warunkach in vitro, obrazujących niezwykle interesujący profil aktywności badanych związków, nie jest możliwe bezpośrednie przełożenie efektów ich działania na żywy organizm. Uzyskane wyniki badań in vivo pozwolą na rzeczywiste określenie potencjału przeciwzapalnego i przeciwzwłóknieniowego badanych związków, jak również ich właściwości farmakokinetycznych i dadzą odpowiedź na pytanie, czy 7,8-dipodstawione pochodne teofiliny mogą stanowić obiecującą grupę związków, w kontekście poszukiwania nowego leku.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniu planowane jest wykorzystanie 668 samic myszy szczepu BALB/c.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

W ramach przedkładanego projektu planowane jest określenie przeciwzapalnego i przeciwzwłóknieniowego potencjału dwóch, 7,8-dipodstawionych pochodnych teofiliny w mysim modelu przewlekłej astmy alergicznej. W celu ograniczenia liczby zwierząt do doświadczenia z kilkudziesięciu związków projektowych, zostaną wybrane tylko trzy pochodne, charakteryzujące się najlepszym profilem aktywności in vitro. Badania w modelu in vivo są poprzedzone licznymi analizami przeprowadzanymi w alternatywnych modelach in vitro, z wykorzystaniem różnych komórek strukturalnych płuc i oskrzeli, tj. komórek nabłonkowych, komórek mięśni gładkich, czy też fibroblastów. W warunkach in vitro weryfikowany jest także potencjał przeciwzapalny i antyoksydacyjny badanych pochodnych z wykorzystaniem mysich makrofagów indukowanych lipopolisacharydem. Ze względu na kompleksowy charakter astmy oskrzelowej, jej złożoną patogenezę, obejmującą różne procesy zachodzące w płucach i oskrzelach chorego nie jest jednak możliwa jednoznaczna weryfikacja aktywności danego związku jedynie w oparciu o wyniki analiz przeprowadzonych w warunkach in vitro. Liczne dane literaturowe wskazują,

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

że model przewlekłej astmy alergicznej wywołanej u myszy jest najczęściej stosowany w badaniach mechanizmów tej choroby, a także w poszukiwaniu nowych, skutecznych terapii. Model przewlekłej astmy alergicznej może być wywołany u różnych gatunków zwierząt, jednak to właśnie mysz jest zwierzęciem o najniższym możliwym poziomie rozwoju, u którego można z powodzeniem zostać przeprowadzony.

Liczba myszy planowana w poszczególnych doświadczeniach jest minimalna ze względu na prawidłową analizę farmakokinetyczną oraz ocenę statystyczną wyników, a także z punktu widzenia zakresu planowanych doświadczeń (np. w modelu przewlekłej astmy alergicznej zaplanowano pobranie krwi, BALu i tkanek do analiz biochemicznych i histologicznych). Na podstawie dostępnych danych literaturowych można stwierdzić, że w przypadku myszy objętość krwi, BALu i tkanek, jaką można uzyskać od jednego zwierzęcia jest niewystarczająca do przeprowadzenia wszystkich analiz planowanych w tym projekcie.

W trakcie badań podjęte będą wszelkie możliwe działania mające na celu ograniczenie bólu czy stresu zwierząt. Spodziewane zmiany zachodzące w modelu przewlekłej astmy u myszy (np. zwiększona eozynofilia, zwiększony poziom IgE, obecność komórek zapalnych w płucach, wydzielanie śluzu) nie powodują odczuwalnego bólu, ale mogą skutkować zmianą niektórych parametrów oddechowych, co z kolei może prowadzić do zmęczenia lub ograniczać łaknienie. Dlatego też czas od ostatniej próby prowokacyjnej do humanitarnego uśmiercenia został ograniczony do minimum. Celem ograniczenia cierpienia zwierząt proces uśmiercenia nastąpi w stanie głębokiej narkozy, wywołanej podaniem ketaminy z ksylazyną.

Dotychczasowe doniesienia naukowe wskazują na brak alternatywnych metod badawczych, za pomocą których można wyznaczyć parametry farmakokinetyczne nowych związków w żywym organizmie, a mysz jest zwierzęciem o niższym stopniu rozwoju, który można wykorzystać do tego celu. Podobna sytuacja dotyczy modelu przewlekłej astmy oskrzelowej. Ze względu na jej złożoność, dostępne metody in vitro pozwalają jedynie w niewielkim stopniu na ocenę wpływu nowych związków na procesy związane z rozwojem choroby. Co więcej wyniki analiz przeprowadzonych metodami in vitro nie zawsze znajdują odzwierciedlenie w analizach przeprowadzonych na żywym organizmie.

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.