

1.TYTUŁ PROJEKTU: Ocena farmakokinetyki inhibitora JAK1/JAK3 oraz jego skuteczności w mysim modelu autoimmunologicznego zapalenia wątroby

2. CZAS TRWANIA PROJEKTU. – **29 miesięcy**

3.SŁOWA KLUCZOWE: autoimmunologiczne zapalenie wątroby, inhibitory JAK, farmakokinetyka.

4.CEL PROJEKTU (**A. Badania podstawowe**).

5. OPIS PLANOWANEGO DOŚWIADCZENIA

Choroby o podłożu immunologicznym, takie jak autoimmunologiczne zapalenie wątroby (AZW), stanowią w dzisiejszych czasach duże wyzwanie dla zespołów badawczych poszukujących nowych metod leczenia. AZW w przypadku złej odpowiedzi na dotychczas dostępne leczenie może doprowadzić do marskości wątroby i w konsekwencji konieczności przeszczepienia tego narządu. Obecnie najczęściej stosowanymi w tej chorobie lekami o silnym działaniu przeciwzapalnym są glikokortykosteroidy, których przyjmowanie wiąże się z występowaniem licznych działań niepożądanych. W leczeniu AZW wykorzystuje się dodatkowo leki immunosupresyjne, których stosowanie również obarczone jest silnymi skutkami ubocznymi.

Kinazy Janusowe (JAK) od kilku lat stanowią nowy cel terapeutyczny w chorobach autoimmunologicznych. Inhibitory tych enzymów mogą stać się alternatywą dla leków steroidowych czy immunosupresyjnych lub umożliwić zmniejszenie ich dawek w chorobach o podłożu autoimmunologicznym. Celem planowanych badań jest ocena skuteczności i farmakokinetyki nieselektywnego inhibitora JAK - tofacitinibu w eksperymentalnym modelu autoimmunologicznego zapalenia wątroby. Dzięki oznaczeniu stężeń związków badanych oraz markerów uszkodzenia wątroby, możliwe będzie przeprowadzenie analizy farmakokinetyczno/farmakodynamicznej, która w sposób ilościowy pozwoli ocenić siłę działania i skuteczność badanego związku oraz pozwoli odpowiedzieć na pytanie czy inhibitory JAK mogą stanowić nowy potencjalny sposób leczenia AZW.

Ostre zapalenie wątroby nie wiąże się z odczuwaniem bólu, lecz może skutkować uczuciem zmęczenia oraz brakiem łaknienia u badanych zwierząt. Niemniej jednak, czas po indukcji choroby do humanitarnego uśmiercenia myszy został ograniczony do minimum.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniu planowane jest wykorzystanie 138 myszy domowych (*Mus musculus*) szczepu BALB/c.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASADY 3R, tj. ZASADY ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: EBSCO; PUBMED; ScienceDirect; Web of Science. Wykorzystano następujące słowa kluczowe: hepatitis model, JAK inhibitors, autoimmunity, pharmacokinetics. Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzono, że w przypadku myszy, ze względu na małą objętość krwi oraz tkanek, jaką można uzyskać od jednego zwierzęcia, w badaniach farmakokinetycznych i farmakodynamicznych konieczne jest poświęcenie zwierzęcia na każdy punkt czasowy celem otrzymania próbki krwi do oznaczenia stężenia badanego związku lub markerów uszkodzenia wątroby. Mysz jest zwierzęciem o najniższym możliwym poziomie rozwoju, u którego można wywołać model autoimmunologicznego zapalenia wątroby podaniem konkanawaliny A. Liczba myszy planowana do doświadczeń (po 6 zwierząt na każdy punkt czasowy) jest minimalna z punktu widzenia prawidłowej oceny statystycznej uzyskanych wyników farmakodynamicznych, jak wynika z przeprowadzonej analizy statystycznej *a priori*. Liczba punktów czasowych, w których pobierany będzie materiał biologiczny od zwierząt z zapaleniem wątroby (5), jest minimalna celem opracowania modelu matematycznego opisującego zmiany stężeń w czasie biomarkerów rozwoju choroby. Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzono również, że przedstawione we wniosku procedury są szeroko stosowane w badaniach farmakodynamicznych nad nowymi związkami o potencjalnym zastosowaniu w terapii schorzeń wątroby w laboratoriach na całym świecie.

Celem przeprowadzenia wiarygodnej analizy farmakokinetycznej konieczne będzie poświęcenie 4 myszy na każdy punkt czasowy oraz ocena stężenia w 6 punktach czasowych, aby określić właściwy model farmakokinetyczny dla tofacitinibu. W modelu zapalenia wątroby testowany będzie jeden badany związek będący inhibitorem kinaz Janusowych – tofacitinib, który jest zarejestrowany w leczeniu innych chorób z autoagresji. Dostępne dane literaturowe pozwalają przypuszczać, iż może on wykazać skuteczność w leczeniu tego

schorzenia. W trakcie badań zostaną podjęte wszelkie działania mające na celu ograniczenie bólu czy stresu zwierząt. Zapalenie wątroby przebiega bez odczuwalnego bólu, lecz skutkuje ono uczuciem zmęczenia oraz brakiem łaknienia, co może wywołać uczucie dyskomfortu u zwierząt. Jednakże czas po indukcji choroby do humanitarnego uśmiercenia został ograniczony do minimum, aby maksymalnie ograniczyć cierpienie myszy. Celem pobrania materiału do badań uśmiercenie zwierząt nastąpi w stanie głębokiej narkozy wywołanej podaniem środka znieczulającego.

Brak jest informacji dotyczących alternatywnych metod badawczych w zakresie poznania farmakokinetyki czy też dystrybucji do tkanek związków egzogennych w żywym organizmie na zwierzętach o niższym stopniu rozwoju niż myszy. Podobnie w przypadku modelu zapalenia wątroby nie prowadzono dotychczas badań z użyciem zwierząt o niższym stopniu rozwoju niż myszy. Badania *in silico* oraz *in vitro* dostarczają jedynie orientacyjnych danych na temat farmakokinetyki badanych związków oraz jego potencjalnej skuteczności, często niepotwierdzających się w warunkach *in vivo*.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną **Punkt 8 wypełnia LKE, a nie Wnioskodawca**

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