

Przedkliniczna ocena profilu farmakokinetycznego substancji badanej w mysim modelu zwierzęcym

Szczegóły nieujęte w poniższym tekście zostaną opisane w szczegółowym protokole badania opracowanym na etapie przygotowywania umowy.

1.1. Cel

Badanie ma na celu wykonanie okresu półtrwania farmakokinetyki, masy ciała i nieprawidłowości klinicznych 10 badanych artykułów + 1 kontrola po podaniu np. dawki 10 mg/kg (lub np. 20 mg/kg) dożylnie (IV) grupie badanych myszy.

1.2. Zwierzęta

Do eksperymentów zostaną użyte 6-9 tygodniowe myszy B6.Cg-Fcgrttm1Dcr Prkdcscid Tg(FCGRT)32DcrJ (najlepiej samice), homozygotyczne pod względem ludzkiego transgenu FcRn Tg(CAG-FCGRT)276Dcr, Fcgrttm1Dc i Prkdcscid. Myszy powinny być dopasowane pod względem wieku, przy czym należy utrzymać co najmniej n=6 myszy na grupę doświadczalną. Oferty bez odpowiednich certyfikatów będą wykluczane.

1.3. Substancje badane i sposób ich podawania

Biologicznie aktywne artykuły testowe 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 oraz kontrola zostaną dostarczone przez Sponsora wraz z protokołem formułacji. Wszystkie związki zostaną przygotowane świeżo przed podaniem dożylnym. Przegląd szczegółów eksperymentu przedstawiono w Tabeli 1.

1.4. Dawkowanie

Dożylna dawka pojedyncza.

1.5. Procedura

Badane artykuły 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 oraz kontrola będą podawane w stężeniu np. 10 lub 20 mg/kg. Okres badania po podaniu dożylnym może wynosić od 2 do 3 tygodni. Plan badania obejmuje pobranie krwi w 10 różnych punktach czasowych, pomiar masy ciała (BW) oraz rejestrację ewentualnych nieprawidłowości klinicznych. Pilotażowe testy ELISA zostaną wykorzystane do określenia optymalnego rozcieńczenia próbki osocza różnymi rozcieńczeniami zarówno we wczesnym okresie po wstrzyknięciu dożylnym, jak i w ciągu 1 dnia. Tak, aby stężenia w osoczu badanych substancji osiągnęły poziom blisko szczytu krzywej wzorcowej w jej zakresie liniowym. Wszystkie próbki osocza zostaną ocenione w trzech powtórzeniach.

1.6. Ogólny plan badań

Minimalna liczba myszy w badanej grupie powinna wynosić n=6. Analiza farmakokinetyczna - okres półtrwania ($t_{1/2}$), masa ciała, nieprawidłowości kliniczne muszą być mierzone i rejestrowane codziennie, jak przedstawiono w Tabeli 2. Wszystkie te dane powinny być analizowane za odpowiednio zwalidowanego naukowego oprogramowania.

1.7. Oceniane parametry

Analiza poziomu cytokin zostanie przeprowadzona na próbkach krwi (TNF alfa, IFN-gamma, IL-4, IL-10, IL-9, IL-17) przed i po badaniu. Co więcej, liczba i % limfocytów T, w tym limfocytów T gamma delta i limfocytów NK, zostaną zarejestrowane przed i po badaniu. Objawy kliniczne i osobnicza masa ciała (BW) będą mierzone przed podaniem związku, a parametry będą zbierane i rejestrowane codziennie, aż do zakończenia badania. Zleceniobiorca powinien informować na bieżąco o dostępności surowych danych w trakcie trwania badania oraz o częstotliwości ich aktualizacji. Zleceniobiorca powinien poinformować Sponsora o harmonogramie podawania substancji testowych oraz o terminach pobierania próbek krwi, a także o sposobie przechowywania próbek osocza.

1.8. Raport z wykonanych badań

Należy przygotować raport z wykonanych badań w standardzie non-GLP. Wszystkie dane eksperymentalne zostaną dostarczone Sponsorowi jako surowe dane, oraz jako podsumowanie w formacie prezentacji PowerPoint, w tym krzywe stężenia w osoczu w czasie, parametry farmakokinetyczne, okres półtrwania ($t_{1/2}$), masa ciała, obserwacje kliniczne, poziomy cytokin i % limfocytów T, w tym limfocytów T gamma delta i komórek NK. Sponsorowi należy dostarczyć obszerny raport z badania wraz z interpretacją wyników.

Tabela 1: Przegląd projektu

Nr grupy	Podawana substancja	Dawka [mg/kg m.c.]	Droga podania, częstotliwość podawania	Szczep myszy, liczba myszy	Harmonogram pobierania próbek krwi
1	kontrola	TBD	IV, 1x	<i>scid</i> FcRn ^{-/-} hFcRn (32) Tg, 6	10 punktów czasowych
2	Substancja badana od 1 do 10	TBD	IV, 1x	<i>scid</i> FcRn ^{-/-} hFcRn (32) Tg, 60	10 punktów czasowych
łącznie				66 myszy	

TBD: Do ustalenia, IV: dożylnie

Tabela 2: Harmonogram pobierania krwi, analiza cytokin, analiza procentowa komórek, masa ciała i obserwacje kliniczne

Dzień	Godzina	Procesowanie osocza, magazynowanie	Masa ciała [g]	Analiza profilu cytokin	% analiza komórek odpornościowych	Objawy kliniczne
TBD	TBD	Wstrzykiwanie badanych artykułów	TAK	Dzień TBD wstecz	Dzień TBD wstecz	Tak
TBD	TBD	TAK	TAK	-	-	TAK
TBD	TBD	TAK	TAK	-	-	TAK

TBD	TBD	TAK	TAK	-	-	TAK
TBD	TBD	TAK	TAK	-	-	TAK
TBD	TBD	TAK	TAK	-	-	TAK
TBD	TBD	TAK	TAK	-	-	TAK
TBD	TBD	TAK	TAK	-	-	TAK
TBD	TBD	TAK	TAK	-	-	TAK
Dzień TBD	-	Analiza ELISA i farmakokinetyka	Analiza	Dzień do ustalenia	Dzień do ustalenia	Analiza

TBD: Do ustalenia, PK: Farmakokinetyka, ELISA: Test immunoenzymatyczny