

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

Tytuł projektu: **Test mikrojądrowy *in vivo* ekstraktu z konopi siewnej**

1. Czas trwania projektu: 1 rok, 4 miesiące

2. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): test mikrojądrowy, FDA, wytyczna OECD 474

3. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): F

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

4. 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.

Badany ekstrakt z konopi siewnej zawiera wiele aktywnych związków a jego głównym składnikiem jest Kannabidiol (CBD) o stężeniu 25% (THC na poziomie <0,2%). Na podstawie dotychczasowych badań wykazano, że ekstrakt wspomaga działanie leków stosowanych w różnych jednostkach chorobowych. Kannabinoidy nasilają działanie przeciwbólowe niesteroidowych leków przeciwzapalnych oraz klasycznych opioidów, a także leków przeciwpadaczkowych, co pozwala na zmniejszenie dawek tych leków, a tym samym ograniczenie ich działań niepożądanych. To wskazuje, że produkty na bazie konopi siewnej mogą w przyszłości nie tylko stanowić leki stosowane w różnych jednostkach chorobowych, ale być także bezpiecznie stosowane wspomagająco (suplementacyjnie).

W ramach projektu wykonany będzie test mikrojądrowy na komórkach ssaków *in vivo* dla Supercritical Fluid Extract of Aerial Parts of Hemp w celu uzyskania danych na temat genotoksyczności po krótkoterminowym podaniu doustnym, oraz w celu określenia zależności pomiędzy dawką a szkodliwym skutkiem. Dawki materiału badanego zostaną ustalone na podstawie wyników badań toksykologicznych na poziomie nie wywołującym u zwierząt poważnych objawów klinicznych. W przypadku stwierdzenia objawów klinicznych wskazujących na silne cierpienie i ból, zwierzęta zostaną humanitarnie uśmiercone.

Celem badania jest uzyskanie informacji, czy materiał badany może powodować uszkodzenia cytoogenetyczne skutkujące powstawaniem struktur zwanych mikrojądrami. Wzrost częstości występowania mikrojąder w

erytroblastach polichromatycznych szpiku kostnego zwierząt narażanych świadczy o występowaniu strukturalnych lub ilościowych aberracji chromosomalnych.

Dane z badania genotoksyczności uzupełnią wyniki innych badań toksyczności doustnej i będą stanowiły podstawę do rejestracji materiału badanego.

Badanie wykonane będzie zgodnie z wytycznymi FDA (Redbook 2000. Chapter IV.C.1.d. Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test, July 2000) oraz wytycznej OECD 474 (2016) na szczurach.

5. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

30 samców, 30 samic szczura wędrownego (*Rattus norvegicus*).

6. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Na etapie przygotowywania niniejszego wniosku została sprawdzona aktualność metodyki badawczej; jest ona aktualnie obowiązująca w badaniu objętym wnioskiem.

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych: PUBMED, Google Scholar, EBSCO gdzie wykorzystano słowa kluczowe: Supercritical Fluid Extract of Aerial Parts of Hemp / CBD genotoxicity. Na podstawie analizy istniejącej literatury stwierdzono, że badanie objęte wnioskiem pozwoli uzyskać zamierzony cel, tj. ocenić potencjał genotoksyczny materiału badanego.

Dane z doświadczenia przeprowadzonego zgodnie z Wytycznymi FDA oraz OECD pozwolą na uzupełnienie dokumentacji rejestracyjnej oraz przyczynią się do ustalenia bezpiecznej i tolerowanej dawki CBD dla ludzi, co jest niezwykle istotne biorąc pod uwagę coraz większe zainteresowanie produktami zawierającymi ekstrakt z konopi siewnej.

ZASADA ZASTĄPIENIA

Badania genotoksyczności zgłoszone w ramach wniosku przeprowadzone zostaną na zwierzętach, ponieważ szczur wędrowny (*Rattus norvegicus*) jest jednym z gatunków zalecanych do badań genotoksycznych przez wytyczne FDA oraz OECD. Dla materiału badanego wykonane zostały badania genotoksyczności metodami alternatywnymi, jednak zgodnie z wymaganiami agencji regulacyjnych oraz w oparciu o wyniki badań alternatywnych niezbędne jest również wykonanie badania genotoksyczności *in vivo*, ponieważ niektóre substancje są mutagenne w testach *in vivo* a nie wykazują działania mutagennego w testach *in vitro* (lub odwrotnie). Testy genotoksyczności *in vivo* w porównaniu do metod alternatywnych uwzględniają takie czynniki jak absorpcja, dystrybucja, metabolizm oraz wydalanie. Zastosowanie zarówno testów *in vivo* oraz *in vitro* pozwala na ocenę bezpieczeństwa stosowania materiału badanego. Według strategii badań genotoksyczności zgodnej z Toxicological Principles for the Safety Assessment of Food Ingredients. Redbook 2000. Chapter IV.C.1. Short-Term Tests for Genetic Toxicity należy wykonać następujące badania:

- test na mutacje genów u bakterii
- test *in vitro* oceniający uszkodzenia chromosomów oraz
- test *in vivo* oceniający genotoksyczność np. test mikrojądrowy

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

ZASADA OGRANICZENIA

W projektowaniu badania uwzględniono udział minimalnej liczby zwierząt z jednoczesnym uwzględnieniem celów badania i wiarygodności uzyskanych wyników. Liczba zwierząt wykorzystanych w badaniu wynika z zastosowania standardowej metody badawczej oraz doświadczenia jednostki badawczej w przeprowadzaniu tego rodzaju badań.

ZASADA UDOSKONALENIA

W trakcie wykonywania badań prowadzona będzie obserwacja zwierząt kładąca szczególny nacisk na objawy wskazujące na cierpienie zwierząt. Projekt badań uwzględnia zastosowanie wczesnego humanitarnego zakończenia procedury.

Zwierzęta będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku, w klatkach spełniających wymogi wskazanych w obowiązujących przepisach. Środowisko zwierząt zostanie wzbogacone, co ma na celu poprawę ich dobrostanu.

Ze względu na trudną do przewidzenia reakcję zwierząt na badany materiał w trakcie badania prowadzone będą codzienne obserwacje kliniczne zwierząt przez wykwalifikowany personel, w tym przez lekarzy weterynarii. Intensywna obserwacja zwierząt pozwoli na stałe monitorowanie ich stanu zdrowia, a w przypadku stwierdzenia u zwierzęcia oznak silnego cierpienia i bólu zastosowane zostanie postępowanie humanitarnego zakończenia procedury, co uwzględnia zgłoszony projekt.

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.