

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **TOKSYCZNOŚĆ OSTRA EKSTRAKTÓW POCHODZENIA NATURALNEGO W MODELU SZCZURZYM**

2. Czas trwania projektu 01.01.2019 - 11.05.2021

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) *Centaurea borysthenica* / *Centaurea daghestanica* / toksyczność ostra / kardioprotekcja / szczury

4. 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

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.

Celem naszych badań jest wyznaczenie medialnej dawki śmiertelnej (DL50) u szczurów dla dwóch ekstraktów roślinnych uzyskanych z *Centaurea borysthenica* i *Centaurea daghestanica* (Lipsky) Wagenitz. Z przeprowadzonych badań własnych na komórkach szczurzych kardiomiocytów płodowych wykazaliśmy właściwości kardioprotekcyjne tych ekstraktów w modelu toksyczności antracyklinowej, dzięki czemu uzyskaliśmy patent [patent PL414619. Korga A, 2017]. Na podstawie uzyskanych wyników badań *in vitro* podejrzewamy, że testowane przez nas ekstrakty nie będą charakteryzowały się znaczącą toksycznością w stosunku do wykorzystywanych zwierząt. Zakładamy, że właściwości badanych ekstraktów mogą być wykorzystane w prewencji kardiomiopatii wywołanej antracyklinami. Pomimo, że nie spodziewamy się wysokiej toksyczności badanych ekstraktów, zostaną wyznaczone humanitarne punkty końcowe. Badane zwierzęta będą przyzwyczajane do dotyku i zapachu człowieka przed rozpoczęciem czynności związanych z badaniem toksyczności. Będą przeprowadzane dokładne obserwacje kliniczne zwierząt. W przypadku wystąpienia określonych w procedurach humanitarnych punktów końcowych, zwierzęta będą natychmiast poddane eutanazji.

W celu przejścia do dalszych etapów badań nad kardioprotekcją w modelu kardiomiopatii antracyklinowej *in vivo*, niezbędne jest wyznaczenie dawki LD50 u szczurów, co pozwoli na określenie wielkości dawki protekcyjnej (1/10 LD50) w przyszłych badaniach na tym modelu doświadczalnym. Planowane badania zostaną przeprowadzone w oparciu o wymogi Systemu Globalnej Harmonizacji [OECD, 1998], Dziennika Ustaw Unii Europejskiej (PL L 81/26) oraz wymagania OECD [OECD, 2008].

Badanie przewiduje możliwie najmniejsze użycie zwierząt. Planowana ilość zwierząt może ulec ograniczeniu w toku prowadzonych doświadczeń.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

40 sztuk, szczur wędrowny

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy sprawdzona została istniejąca wiedza w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych PUBMED, ScienceDirect i Web of Science (JCR). Wykorzystano następujące słowa kluczowe:

Centaurea borysthena / *Centaurea daghestanica* / acute toxicity / cardioprotective effect / rats / human

Na podstawie dostępnej literatury można stwierdzić, że nie ma żadnych doniesień odnośnie właściwości kardioprotekcyjnych *in vivo* opatentowanych przez nas dwóch ekstraktów, których właściwości protekcyjne wykazaliśmy na komórkach szczurzych kardiomiocytów płodowych [Korga A, 2017].

Uzyskanie danych z naszego projektu może umożliwić zatem opracowanie nowatorskiej kardioprotekcji w oparciu o całkowicie nowe preparaty. Zakładamy, że właściwości badanych ekstraktów mogą być wykorzystane w prewencji kardiomiopatii wywołanej antracyklinami.

Proponowane doświadczenia zostały zaplanowane zgodnie z uwzględnieniem zasady 3R:

Zasada zastąpienia:

Nie można zastosować metody badawczej zapewniającej osiągnięcie celu niniejszego doświadczenia bez wykorzystania zwierząt doświadczalnych. Dostępna literatura wskazuje, że szczur jest gatunkiem preferowanym w badaniach toksyczności ostrej. Badania *in vitro* zostały już wykonane i dały nam

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

obiecujące rezultaty. Jednak na ich podstawie nie jesteśmy w stanie odnieść efektów działania na organizm człowieka. Niezbędna jest więc ocena wpływu badanych substancji na całokształt organizmu żywego i ocena efektów ich działania.

Zasada ograniczenia:

Należy podkreślić, że opisana w przedstawionym wniosku procedura przyczynia się znacząco do zmniejszenia liczby zwierząt wykorzystanych w doświadczeniach (w sumie maksymalnie 20 osobników na 1 ekstrakt) w porównaniu z badaniami klasycznymi (40 na grupę). Tak znacząca redukcja liczby zwierząt w procedurze jest możliwa dzięki rezygnacji z konieczności wyliczania medialnej dawki śmiertelnej jako jedynego kryterium klasyfikacji substancji.

Zasada udoskonalenia:

Wykorzystywane zwierzęta będą przetrzymywane w warunkach odpowiednich dla swojego gatunku. Klatki będą zaopatrzone w elementy wzbogacające środowisko dla gryzoni. Przed rozpoczęciem doświadczeń podczas 7-dniowego okresu adaptacji do warunków laboratoryjnych stosowana będzie czynność *handlingu*, w trakcie której zwierzęta przyzwyczajane będą do obecności eksperymentatora i jego dotyku, co pozwoli na zminimalizowanie stresu zwierząt podczas dalszych etapów procedury doświadczalnej. Przed każdym testem zwierzęta będą przechodziły 30-minutowy okres aklimatyzacji do pomieszczeń, w których są prowadzone doświadczenia. Niestety, ze względu na możliwość interakcji pomiędzy badaną substancją, a lekami uspakajającymi i/lub przeciwbólowymi nie jest możliwe ich podanie. Czas trwania procedury jest krótki, w związku z czym nie dojdzie do długotrwałego pogorszenia stanu zdrowia zwierząt. Zostały wyznaczone także humanitarne punkty końcowe. Wszystkie czynności prowadzone będą przez przeszkolonych wykonawców, posiadających wieloletnie doświadczenie w pracy ze zwierzętami. Zwierzęta będą znajdowały się pod stałą kontrolą lekarza weterynarii.

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.