

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

Tytuł projektu: ***Aktywność przeciwdrgawkowa schizandryny B w doświadczalnych modelach drgawek padaczkowych u myszy***

1. Czas trwania projektu 01.07.2020 r. – 01.03.2021 r. (8 miesięcy)

2. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): schizandryna B, padaczka, *iv PTZ test*, MEST, drgawki psychomotoryczne

3. 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.

Schizandryna B (gomisyna N) występuje w ekstraktach z owoców cytryńca chińskiego (*Schisandra chinensis* Turcz.). Dostępne na rynku suplementy diety zawierające w swoim składzie ekstrakty z owoców cytryńca cieszą się dużym zainteresowaniem ze względu na swoje właściwości m.in. hepatoprotekcyjne, kardioprotekcyjne, adaptogenne, przeciwzapalne i antyoksydacyjne. Badania eksperymentalne wykazały szereg korzystnych oddziaływań ekstraktów z cytryńca chińskiego i zawartych w nich związków chemicznych na funkcje centralnego układu nerwowego. W przypadku schizandryny B wykazano jej działanie neuroprotekcyjne w doświadczalnych modelach choroby Alzheimera, Parkinsona oraz udaru niedokrwinnego. Poprawiała ona funkcje kognitywne, wykazywała działanie przeciwddepresyjne i przeciwlękowe, nasilała procesy neurogenezy. W związku z szerokim spektrum oddziaływań schizandryny B na centralny układ nerwowy istotnym wydaje się być również poznanie jej wpływu na próg aktywności drgawkowej.

Celem niniejszego projektu będzie ocena działania przeciwdrgawkowego schizandryny B w doświadczalnych modelach drgawek padaczkowych u myszy. Działanie to zostanie ocenione w trzech modelach drgawek padaczkowych u myszy, tj. w teście drgawek wywoływanych dożylną infuzją pentetrazolu (*iv PTZ*), w teście progu maksymalnego wstrząsu elektrycznego (MEST) oraz w teście progu drgawek psychomotorycznych indukowanych prądem elektrycznym o częstotliwości 6 Hz.

Wyniki planowanych doświadczeń będą uzupełnieniem dotychczasowego stanu wiedzy na temat wpływu

schizandryny B na funkcje centralnego układu nerwowego. Pozwolą również ocenić bezpieczeństwo stosowania suplementów zawierających ekstrakty z cytryńca chińskiego, zwłaszcza przez osoby cierpiące na padaczkę. Wykazanie właściwości przeciwdrgawkowych schizandryny B może przyczynić się do opracowania nowych sposobów terapii zaburzeń padaczkowych.

## 6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Doświadczenia zostaną przeprowadzone na samcach myszy domowej (*Mus musculus*) stada Swiss. Liczba zwierząt wynosi 485 osobników.

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA<sup>1</sup>

Przygotowując projekt badawczy sprawdziłam istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych PUBMED, ScienceDirect i Web of Science (JCR).

Wykorzystałam następujące słowa kluczowe: schisandrin B / epilepsy / seizure / convulsion / seizure models / epilepsy models / pentetrazole kindling test / brain / central nervous system / mice / rats / human

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzam, że schizandryna B wykazuje liczne działania neurofarmakologiczne, m.in. działa ochronnie w zwierzęcych modelach choroby Alzheimera, Parkinsona oraz udaru niedokrwinnego, poprawiała funkcje kognitywne, wykazywała działanie przeciwdepresyjne, nasilała procesy neurogenezy. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że schizandryna B wpływa na funkcje centralnego układu nerwowego.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

- A. Rozwinięcie teoretyczne istniejącej wiedzy w kierunku dokładniejszego poznania wpływu schizandryny B na funkcje centralnego układu nerwowego, w szczególności pod kątem jej właściwości przeciwdrgawkowych.
- B. Lepszą ocenę możliwości zastosowania terapeutycznego tego związku u pacjentów z padaczką.
- C. Zastosowanie uzyskanej wiedzy w procesie poszukiwania nowych związków o działaniu przeciwdrgawkowym.

Proponowane doświadczenia zostały zaplanowane z uwzględnieniem zasady 3R.

### Zasada zastąpienia:

Nie można zastosować metody badawczej zapewniającej osiągnięcie celu niniejszego doświadczenia bez wykorzystania zwierząt doświadczalnych. Dokładne poznanie mechanizmów działania przeciwdrgawkowego badanych substancji wymaga przeprowadzenia badań *in vivo* z wykorzystaniem zwierząt. Dostępna literatura wskazuje, że myszy są właściwym gatunkiem do wykonywania zaplanowanych doświadczeń. Badania *in vitro* czy *in silico* nie pozwolą na ocenę pełnego potencjału przeciwdrgawkowego schizandryny B. Przy zastosowaniu tych metod nie będzie również możliwe przeprowadzenie oznaczeń biochemicznych w tkance mózgowej. Co więcej, danych takich nie dostarczą również badania kliniczne, ponieważ nie ma możliwości przeprowadzenia oznaczeń biochemicznych w mózgu pacjentów, który jest miejscem działania substancji działających przeciwdrgawkowo.

<sup>1</sup> Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

Zasada ograniczenia:

Liczba zwierząt zaplanowanych do doświadczeń została ograniczona do niezbędnego minimum, pozwalającego na rzetelną analizę statystyczną otrzymanych wyników. Próg drgawek indukowanych maksymalnym wstrząsem elektrycznym oraz próg drgawek psychomotorycznych wyznaczony zostanie tzw. metoda „up and down”, która pozwoli na zredukowanie liczby myszy w grupie do niezbędnego minimum (tj. 20 osobników) w porównaniu do alternatywnej metody log-probitowej, która wymaga wykorzystania 32–40 osobników w grupie. Z uwagi na krótki czas trwania oraz małą inwazyjność, testy oceniające działania niepożądane, tj. test komina, test siły chwytu oraz test oceniający aktywność ruchową, zostaną przeprowadzone na tych samych zwierzętach, co pozwoli na znaczne zredukowanie liczby zwierząt użytych w doświadczeniu. Liczba zwierząt wykorzystanych w doświadczeniach może zostać zmniejszona w trakcie przeprowadzania zaplanowanych procedur.

Zasada udoskonalenia:

Wykorzystywane zwierzęta będą przetrzymywane w warunkach odpowiednich dla swojego gatunku. Klatki zaopatrzone będą w elementy wzbogacające środowisko gryzoni (domki, papierowe tunele, materiał do budowy gniazda) w celu zwiększenia ich aktywności. Przed rozpoczęciem doświadczeń, podczas 7-dniowego okresu adaptacji do warunków laboratoryjnych, stosowana będzie procedura *handlingu*, w trakcie której zwierzęta przyzwyczajane będą do obecności eksperymentatora i jego dotyku, co pozwoli na zminimalizowanie stresu zwierzęcia podczas przechodzenia kolejnych etapów procedur doświadczalnych. Przed każdym testem zwierzęta będą przechodziły 30-minutowy okres aklimatyzacji do pomieszczeń, w których przeprowadzane są doświadczenia. Niestety ze względu na możliwość interakcji pomiędzy badaną substancją a lekami uspokajającymi i/lub przeciwbólowymi nie jest możliwe ich podanie. Stosowane będzie jednak znieczulenie miejscowe w przypadku testów drgawkowych. Czas trwania poszczególnych procedur jest krótki, w związku z czym nie dojdzie do długotrwałego pogorszenia stanu zdrowia zwierząt. W planowanych testach drgawkowych aktywność drgawkowa trwa kilka-kilkadziesiąt sekund, po czym zwierzęta poddawane są natychmiastowej eutanazji. 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 retrospektywną<sup>2</sup>

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

---

<sup>2</sup> Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.