

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu

„Wpływ umbeliferonu (7-hydroksykumaryny) na ochronne działanie wybranych leków przeciwpadaczkowych w teście drgawek psychoruchowych (6 Hz) u myszy”

2. Czas trwania projektu3 lata.....

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): test 6 Hz, leki przeciwpadaczkowe, umbeliferon.

4. 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.

Padaczka jest jedną z najczęściej spotykanych chorób układu nerwowego. Pomimo rosnącej liczby i różnorodności leków przeciwpadaczkowych, 30-40% pacjentów chorujących na tę chorobę cierpi z powodu skutków ubocznych wywołanych stosowaniem leków. W ciągu ostatnich kilku lat wielu badaczy zainteresowało się poszukiwaniem nowych substancji pochodzenia roślinnego, które posiadają właściwości przeciwdrgawkowe, jak również wpływają korzystnie na leki przeciwpadaczkowe podnosząc ich aktywność przeciwdrgawkową. Wśród szerokiej grupy takich substancji znajduje się umbeliferon. Biorąc pod uwagę potwierdzony już przez nasz zespół korzystny wpływ na działanie leków przeciwpadaczkowych w teście MES u myszy, będącym zwierzęcym modelem drgawek

tonicznie-klonicznych u ludzi, postanowiliśmy poszerzyć zakres badań o dodatkowy model padaczki, jakim jest test drgawek psychoruchowych (6 Hz).

Celem proponowanego projektu jest ocena wpływu umbeliferonu na ochronne działanie 6 wybranych leków przeciwpadaczkowych (lakoamidu LCM, lewetiracetamu LEV, fenobarbitalu PB, kwasu walproinowego VPA, klobazamu CLB i tiagabiny TGB) w modelu drgawek psychoruchowych (6 Hz) u myszy. Ponadto, przeprowadzona zostanie analiza działań niepożądanych umbeliferonu w kombinacji z badanymi lekami przeciwpadaczkowymi w wybranych testach behawioralnych: teście komina (ocena koordynacji ruchowej), biernego unikania (ocena pamięci długotrwałej), oraz chwytania (ocena siły mięśni szkieletowych). Dodatkowo, przeprowadzona zostanie także ocena stężenia leków przeciwpadaczkowych w homogenatach mózgów myszy w celu potwierdzenia bądź wykluczenia profilu interakcji na poziomie farmakokinetycznym pomiędzy umbeliferonem a badanymi lekami przeciwpadaczkowymi.

Uzyskanie korzystnych wyników z przeprowadzonych badań, a mianowicie zwiększone działanie przeciwdrgawkowe badanych leków przeciwpadaczkowych pod wpływem umbeliferonu przy jednoczesnym braku działań niepożądanych pomiędzy badanymi lekami z pewnością warto będzie szczególnej uwagi i kontynuowania doświadczeń w przyszłości w badaniach klinicznych.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Myszy Albino Swiss – **656** szt.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

Przygotowując projekt badawczy sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym w elektronicznych bazach danych: PubMed, Web of Science, Scopus, Ebsco. Wykorzystano słowa kluczowe: 6-Hz corneal stimulation model, antiepileptic drugs, umbelliferone.

Na podstawie przeszukanej literatury oraz wyników uzyskanych z dotychczas prowadzonych badań przygotowany został projekt, którego celem jest ocena wpływu umbeliferonu na wybrane leki przeciwpadaczkowe (LCM, LEV, PB, VPA, CLB, TGB). Na podstawie poprzednich doświadczeń z użyciem umbeliferonu i wybranych leków LPP w teście MES u myszy, wykazano, że umbeliferon nasilał istotnie statystycznie przeciwdrgawkowe działanie fenobarbitalu i kwasu walproinowego

(klasycznych leków przeciwpadaczkowych) w teście MES, obniżając ich dawkę efektywną (ED₅₀). Niezmiernie istotne jest kontynuowanie badań i poszerzenie ich o test drgawek psychoruchowych 6 Hz.

1. R-OGRANICZENIE. W celu ograniczenia (REDUCTION) liczby zwierząt, aby określić ewentualne skutki uboczne kombinacji umbeliferonu z wybranymi lekami przeciwpadaczkowymi wszystkie trzy testy behawioralne tj. test komina, test chwytania i test biernego unikania zostanie przeprowadzony na tej samej grupie zwierząt, co pozwoli na uzyskanie znaczących dla celu naukowego projektu dodatkowych wyników badań przy jednoczesnym ograniczeniu liczby zwierząt. Ponadto w PROCEDURZE 3 obejmującej oznaczenie stężenia badanych leków w homogenatach mózgów, grupy zwierząt będą składały się z 6 osobników, co dodatkowo ograniczy liczbę zwierząt w zaplanowanym projekcie.

2. R-UDOSKONALENIE. Zwierzęta otrzymując dootrzewnowo wybrane leki przeciwpadaczkowe (LPP) będą chronione przeciw drgawkom psychoruchowym, ponieważ LPP w warunkach *in vivo* wykazują działanie przeciwdrgawkowe. Zatem, LPP powinny łagodzić stres (REFINEMENT), związany z wywoływaniem drgawek psychoruchowych u myszy. Ponadto zwierzęta będą miały zapewnione odpowiednie warunki utrzymania, środowisko bytowe wzbogacone będzie poprzez domki, tunele z celulozy, bawełniane podkładki oraz drewniane klocki do ścierania zębów. W każdej klatce będzie odpowiednia ilość w/w akcesoriów, które zapewnią częściową realizację naturalnych zachowań, będą zapobiegać nudzie, pomogą rozładować stres i pozwolą ukryć się, gdy zwierzę tego potrzebuje.

3. R-ZASTĄPIENIE. Badania *in vitro* stosowane w przypadku substancji o potencjalnym działaniu przeciwdrgawkowym dostarczają jedynie informacji na temat mechanizmów ich działania w odniesieniu do receptorów, enzymów lub kanałów jonowych. Jednakże, ustalenie zarówno nowych strategii leczenia jak i działania badanych substancji wymaga wprowadzenia eksperymentalnych modeli drgawkowych w warunkach *in vivo* u zwierząt. W chwili obecnej, mając na uwadze uzyskanie wiarygodnych wyników z badań przyżyciowych nie ma możliwości zastąpienia (REPLACEMENT) proponowanych badań w warunkach *in vitro*, bez udziału zwierząt laboratoryjnych.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na wskazanie, która z badanych kombinacji umbeliferonu z LPP wykaże najsilniejsze działanie przeciwdrgawkowe. Ponadto, jednoczesne przeprowadzenie testów behawioralnych i ocena stężeń leków w mózgach pozwoli określić skutki

uboczne oraz czy działanie uzyskanych kombinacji umbeliferonu z LPP jest natury farmakodynamicznej czy farmakokinetycznej.

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.