

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „**Wpływ limetyny, ostolu i skopoletyny na zaburzenia kognitywne indukowane podaniem lipopolisacharydu u myszy**”

2. Czas trwania projektu 01.07.2019 – 30.06.2022 (3 lata)

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) Kumaryny, pamięć, lipopolisacharyd, choroba Alzheimera

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.

Substancje roślin należących do rodziny Apiaceae, znane są ze swoich wielokierunkowych właściwości farmakologicznych i od lat stosowane są w medycynie ludowej, najczęściej jako środki o działaniu poprawiającym trawienie, działaniu spazmolitycznym na przewód pokarmowy i drogi oddechowe czy działaniu przeciwdrobnoustrojowym. Aktywności te wynikają głównie z obecności kumaryn, olejków eterycznych czy flawonoidów, jako związków biologicznie czynnych. Pomimo dobrej lipofilności, przenikalności przez barierę krew-mózg i wchłanianiu po podaniu obwodowym, wpływ tych związków na funkcje ośrodkowego układu nerwowego nie został w pełni opisany. Celem planowanych doświadczeń jest ocena wpływu wybranych furanokumaryn: limetyny, ostolu oraz skopoletyny na procesy pamięciowe, indukowane podaniem lipopolisacharydu. Lipopolisacharyd indukuje postępującą neurotoksyczność poprzez wiązanie się z receptorem Toll na komórkach mikrogleju, powodując uwalnianie neurotoksycznych czynników zapalnych. Podanie lipopolisacharydu jest zwierzęcym modelem choroby Alzheimera, odzwierciedlającym upośledzenie pamięci i

amyloidogenezę oraz zmiany zapalne. Z uwagi na to, iż dane literaturowe wskazują, że furanokumaryny poprawiają procesy pamięciowe, są inhibitorami acetylocholinoesterazy, enzymu rozkładającego acetylocholinę, oraz hamują procesy stresu oksydacyjnego w mózgu, istnieją silne przesłanki do podjęcia takich badań. Kolejnym etapem jest przebadanie wpływu wybranych związków na procesy stresu oksydacyjnego w wybranych strukturach ośrodkowego układu nerwowego wyizolowanych po zakończeniu badań behawioralnych. Wyniki powyższych doświadczeń mogą przyczynić się do dokładniejszego poznania mechanizmu działania kumaryn oraz rozwoju nowych kierunków farmakoterapii chorób neurodegeneracyjnych przebiegających z deficytami pamięci. Dodatkowo, wyjaśnienie zależności, jaka istnieje pomiędzy strukturą badanych związków, a ich aktywnością, pomóc może w przypadku projektowania cząsteczek nowych leków syntetycznych lub ich modyfikacji.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniach zostaną wykorzystane samce myszy domowej (stado Swiss). Liczba zwierząt wynosi 620 osobników.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

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

Przygotowując projekt badawczy sprawdziłam istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych PubMed, Scopus oraz Web of Science (JCR).

Wykorzystałam następujące słowa kluczowe:

Coumarins, memory, lipopolisaccharide, Alzheimer's disease

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że:

- A. Nagromadzony materiał badawczy ze względu na brak danych literaturowych nie pozwala stwierdzić, jaki jest wpływ wybranych kumaryn na procesy pamięciowe indukowane podaniem LPS, zarówno po podaniu jednorazowym, jak i chronicznym.
- B. Dotychczas wykazano przeciwzapalne działanie bergaptenu w modelu LPS,
- C. Osthol łagodzi objawy choroby Parkinsona w zwierzęcym modelu tej choroby,
- D. Skopoletyna nasila przekąźnictwo cholinergiczne w ośrodkowym układzie nerwowym gryzoni:
- E. Inne kumaryny niż wybrane do badań (ksantotoskyna, bergapten i imperatoryna) poprawiają procesy pamięciowe u zdrowych myszy i u myszy po podaniu skopolaminy, jako środka amnestycznego.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

- A. Rozwinięcie wiedzy teoretycznej w zakresie aktywności biologicznej wybranych kumaryn;
- B. Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na opracowywaniu nowych terapii leczenia zaburzeń Kognitywnych.

ZASADA 3R

1. Udoskonalanie

Zastosowanie jednopłciowej grupy badawczej (samce) pozwoli na uniknięcie rywalizacji samców o samicę oraz da możliwość zredukowania ilości zmiennych (takich jak płeć) podczas oceny wpływu badanych substancji na ośrodkowy układ nerwowy.

Jednocześnie zastosowane metody badawcze zostały wybrane tak, aby ograniczyć do minimum albo wyeliminować ból, cierpienie i dystres. Zwierzęta w całym okresie doświadczalnym będą przebywały pod opieką doświadczonego personelu, w ściśle określonych warunkach laboratoryjnych (temperatura, wilgotność, żywienie, dostęp do wody pitnej). W celu wzbogacenia środowiska zwierzęta będą miały umieszczane w klatkach bytowych takie elementy, jak: domki, klocki, gryzaki.

2. Ograniczenie

W doświadczeniu zaplanowano użycie 640 samców myszy domowej, stado Swiss. Liczba wykorzystanych zwierząt została ograniczona do poziomu niezbędnego do osiągnięcia celu, czyli oceny działania mefedronu na procesy metaboliczne i pamięciowe. Zaplanowana liczba zapewnia powtarzalność pomiarów i minimalizuje zmienność pozwalając na ograniczenie ilości wykorzystywanych zwierząt do niezbędnego minimum.

Zwierzęta po jednorazowym podaniu ww. związków, użyte w teście aktywności lokomotorycznej o niewielkiej dotkliwości, zostaną użyte ponownie do badania aktywności lokomotorycznej po chronicznym

podaniu tych związków.

3. Zastąpienie

W celu zweryfikowania wpływu mefedronu na procesy metaboliczne i pamięciowe nie można zastosować metody, bez udziału zwierząt. Zastosowanie zwierząt w planowanym doświadczeniu pozwoli na poznanie działania badanych substancji na cały organizm i będące podstawą jego funkcjonowania tkanki, a także określenie wzajemnych interakcji między nimi. Jest to niemożliwe przy zastosowaniu procedur *in vitro*, m.in. hodowli tkankowych. Planowane badania należą do grupy badań podstawowych, mających na celu poznanie efektów działania badanych związków, stąd też nie ma możliwości zastąpienia zwierząt metodami alternatywnymi.

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.