

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Ocena wpływu rufinamidu i stiripentolu na przebudowę tkanki kostnej, czynność gruczołów wydzielania wewnętrznego (ze szczególnym uwzględnieniem gonad), wzrost, masę ciała, zaburzenia lipidowe oraz funkcję wątroby i nerek u szczurów samców

2. Czas trwania projektu: 01.07.2018 – 30.06.2021

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): Rufinamid, stiripentol, metabolizm kostny, gonady, zaburzenia lipidowe

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): badania podstawowe

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 (epilepsja) jest jedną z najczęstszych przewlekłych chorób neurologicznych. Większość zachorowań na padaczkę rozpoznawana jest w dzieciństwie (najczęściej w pierwszych 10 latach życia). Stosowanie leków przeciwpadaczkowych (AED, anti-epileptic drugs) jest podstawową metodą leczenia padaczki. Leki przeciwpadaczkowe są przyjmowane przez pacjentów długotrwale, przez wiele lat, a nawet do końca życia. Z tego powodu istotne znaczenie ma optymalizacja terapii padaczki, w tym zmniejszenie ryzyka potencjalnych polekowych działań niepożądanych.

U około 50% pacjentów otrzymujących leki przeciwpadaczkowe występują nieprawidłowości w budowie kości (*Fan et al. 2016*). U dzieci leczonych AED opisywano m.in. zwiększony obrót kostny, krzywicę, osteopenię, osteoporozę oraz zwiększone ryzyko złamań i niedobór wzrostu (*Pack, Gidal, and Vazquez 2004*) (*C. Lin et al.*

2016).

Rufinamid i stiripentol należą do nowszych leków przeciwpadaczkowych, metabolizowanych w wątrobie, o nieznanym dotychczas wpływie na kości. Ocenę wpływu tych leków na kości u dzieci znacznie utrudnia fakt, że są one zawsze podawane w leczeniu skojarzonym z innymi lekami. Z uwagi na możliwy wpływ leków przeciwpadaczkowych na układ dokrewny (Sherifa A. Hamed 2016) (Herzog and Fowler 2005) nie można wykluczyć wpływu rufinamidu i stiripentolu na morfologię, czynność jąder i stężenie testosteronu, który jako hormon o silnym działaniu anaboliczym wpływa nie tylko na metabolizm tkanki kostnej, ale również na płodność.

Celem badania jest kompleksowa ocena wpływu rufinamidu i stiripentolu na metabolizm, mikroarchitekturę i własności biomechaniczne kości oraz wzrost kości na długość. Jednocześnie zaplanowano ocenę wpływu wymienionych leków na czynność gruczołów wydzielania wewnętrznego ze szczególnym uwzględnieniem gonad (jąder), ocenę przyrostu masy ciała, glikemii, gospodarki lipidowej i rozwoju zmian miażdżycowych, a także ocenę wpływu leków na funkcję wątroby oraz nerek. Wyniki badania w przyszłości pomogą w optymalizacji leczenia padaczki u dzieci.

#### Piśmiennictwo:

Fan, Hueng-chuen, Herng-shen Lee, Kai-ping Chang, Yi-yen Lee, Hsin-chuan Lai, Pi-lien Hung, Hsiu-fen Lee, and Ching-shiang Chi. 2016. "The Impact of Anti-Epileptic Drugs on Growth and Bone Metabolism." *International Journal of Molecular Sciences* 17: 1242.

Hamed, Sherifa A. 2016. "The Effect of Epilepsy and Antiepileptic Drugs on Sexual, Reproductive and Gonadal Health of Adults with Epilepsy." *Expert Review of Clinical Pharmacology*. doi:10.1586/17512433.2016.1160777.

Herzog, Andrew G, and Kristen M Fowler. 2005. "Sexual Hormones and Epilepsy: Threat and Opportunities." *Current Opinion in Neurology* 18 (2): 167–72.

Lin, Chien-ming, Hueng-chuen Fan, Tsu-yi Chao, Der-ming Chu, Chi-chieh Lai, Chih-chien Wang, and Shyi-jou Chen. 2016. "Potential Effects of Valproate and Oxcarbazepine on Growth Velocity and Bone Metabolism in Epileptic Children- a Medical Center Experience." *BMC Pediatrics* 16 (61). *BMC Pediatrics*: 1–6.

Pack, Alison M., Barry Gidal, and Blanca Vazquez. 2004. "Bone Disease Associated with Antiepileptic Drugs." *Cleveland Clinic Journal of Medicine*.

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

36 szczurów samców Wistar

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

### Zasada zastąpienia:

- Rufinamid i stiripentol są zawsze stosowane u dzieci w politerapii, co znacznie utrudnia ocenę wpływu pojedynczego leku na rosnące kości, układ endokrynnny, rozrodczy, zaburzenia metaboliczne
- Nie jest możliwe osiągnięcie celów badania (m.in. kompleksowa ocena wpływu rufinamidu i stiripentolu na przebudowę tkanki kostnej i czynność gonad) w oparciu o nieinwazyjne badania obserwacyjne u dzieci
- Nie można zastosować metody badawczej zapewniającej osiągnięcie niniejszego celu poza organizmem żywym, co wynika z niemożności obserwacji *in vitro/in silico* pełnego spektrum zmian jakie zachodzą w organizmie. Metabolizm kostny, wzrost organizmu oraz czynność gruczołów wydzielania wewnętrznego są zależne od funkcji wielu narządów i układów (m.in. przewodu pokarmowego, układu endokrynnego, wątroby, nerek)
- Nie jest możliwe zastosowanie modelu pochodzącego ze zwierząt bezkręgowych ze względu na brak u nich kości
- Model szczurzy jest optymalnym modelem zwierzęcym do kompleksowej oceny wpływu leków na kości i jest on powszechnie stosowany w badaniach naukowych (*Jee and Yao 2001*). Dokładnie znana jest metodyka badań kości u szczurów (histomorfometria kości, badania biomechaniczne kości), są dostępne odczynniki do oznaczeń immunologicznych, co pozwala na dokładne porównanie uzyskanych wyników. Wzrost kości długich na długość jest możliwy tylko w okresie, gdy występuje nasadowa chrząstka wzrostowa. U szczurów samców występuje późne zarastanie nasad kości długich, co umożliwia obserwację m.in. chrząstki wzrostowej. Z tego powodu szczury samce są często stosowanym modelem w ocenie wpływu leków na tkankę kostną w okresie wzrostu.

### Zasada ograniczenia:

- Celem porównania wyników zaplanowano 3 grupy po 12 szczurów (razem 36 szczurów). Liczba zwierząt została ograniczona do niezbędnego minimum i jest podyktowana wiarygodnością metod analizy statystycznej (obliczano w oparciu o zakładane wartości densytometrii - przy założonej średniej populacyjnej gęstości mineralnej kości (BMD) wynoszącej  $0,27 \pm 0,008$  g/cm<sup>2</sup>, zakładanej minimalnej różnicy wynoszącej 0,01, maksymalnym prawdopodobieństwie błędu pierwszego rodzaju  $\alpha=0,05$  i zakładanej mocy docelowej testu  $\beta=0,8$  wymagana liczebność grupy (n) wynosi 12 - obliczenia wykonano przy pomocy STATISTICA Software, version 12, from StatSoft, Inc)
- Aby ograniczyć ilość wykorzystanych zwierząt zastosowano czynności minimalizujące zmienność i zwiększające powtarzalność pomiarów - grupy będą jednorodne pod względem wieku i masy ciała, taka sama pasza, ten sam schemat czynności procedury we wszystkich grupach
- Zaplanowane doświadczenie pozwala na ocenę w jednym badaniu licznych możliwych działań niepożądanych rufinamidu i stiripentolu (m.in. wpływ na układ kostny, układ endokrynnny, układ rozrodczy, gospodarkę lipidową,

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

glikemię i rozwój miażdżycy, funkcję wątroby oraz nerek) co pozwala zmniejszyć ilość planowanych doświadczeń, a tym samym ograniczyć ilość wykorzystywanych w nich zwierząt

- Doświadczenie zostanie zgłoszone do bazy próbek biologicznych: [www.bazaprobek.pl](http://www.bazaprobek.pl) celem umożliwienia wykorzystania materiału biologicznego przez innych badaczy

#### Zasada udoskonalenia:

- Procedura będzie poprzedzona handlingiem trwającym 7-14 dni, co pozwoli zwierzętom przyzwycząć się do eksperymentatorów i ograniczy stres odczuwany przez zwierzęta.

- Wszystkie czynności będą wykonywane przez osoby znane zwierzętom, ujęte we wniosku i posiadające uprawnienia do badań na szczurach.

- Osoby, które będą opiekowały się zwierzętami mają doświadczenie w opiece nad szczurami

- Zwierzęta będą przebywały w warunkach odpowiednich dla ich gatunku, ze wzbogaceniami, z wolnym dostępem do wody i certyfikowanej paszy bytowej, z zachowaniem cyklu dobowego (12 godzin dzień, 12 godzin noc), w stałej temperaturze otoczenia (21-23<sup>0</sup>C)

- Metody badawcze zostały wybrane tak aby ograniczały do minimum lub eliminowały ból, cierpienie, dystres i możliwość trwałego uszkodzenia organizmu zwierząt

- Zaplanowane metody eutanazji są zgodne z dyrektywą 2010/63/EU, gwarantują humanitarne zakończenie procedury

- Opracowano zasady postępowania oraz oceny zwierząt pozwalające na zastosowanie wczesnego humanitarnego zakończenia procedury

#### Piśmiennictwo:

Jee, W S, and W Yao. 2001. "Overview: Animal Models of Osteopenia and Osteoporosis." Journal of Musculoskeletal & Neuronal Interactions 1 (3): 193–207.

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.