

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu *Ocena działania przeciwdrgawkowego, przeciwdepresyjnego i toksycznego pterostilbenu w testach behawioralnych u myszy*

2. Czas trwania projektu 05.07.2018 – 30.06.2021, 36 miesięcy

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): pterostilben, drgawki, depresja, toksyczność, myszy

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.

Pterostilben jest dimetylowanym analogiem resveratrolu, który wykazuje szereg różnorodnych działań farmakologicznych. Wyniki dotychczasowych badań wykazały jego skuteczność w leczeniu m.in. otyłości, chorób o podłożu zapalnym, chorób układu krążenia i nowotworowych. Ze względu na szereg udowodnionych działań farmakologicznych związek ten jest składnikiem suplementów diety dostępnych na rynku farmaceutycznym. Wyniki badań eksperymentalnych udowodniły również działanie ochronne pterostilbenu w doświadczalnych modelach chorób neurodegeneracyjnych czy udaru, stwierdzono również jego działanie przeciwbólowe i przeciwłękowe. W celu lepszego poznania właściwości terapeutycznych tego związku należy zbadać również jego potencjalne działanie przeciwdrgawkowe i przeciwdepresyjne. Niezbędne wydaje się również poznanie ewentualnych działań niepożądanych pterostilbenu.

Celem planowanych doświadczeń jest wyznaczenie dawek ED₅₀ (tj. dawka, która chroni 50% badanych zwierząt przed wystąpieniem drgawek) pterostilbenu w dwóch testach drgawkowych u myszy, tj. w

teście maksymalnego wstrząsu elektrycznego oraz w teście drgawek psychomotorycznych. Działanie przeciwdepresyjne tego związku zostanie sprawdzone w teście wymuszonego pływania (Porsolta) u myszy. Dodatkowo w ramach planowanego projektu zbadane zostaną działania niepożądane tego związku pod kątem jego wpływu na spontaniczną aktywność ruchową, koordynację ruchową i siłę mięśni szkieletowych myszy.

Wyniki uzyskane w planowanym projekcie mogą być istotną wskazówką w procesie poszukiwania nowych leków przeciwpadaczkowych i/lub przeciwdepresyjnych. Pozwolą również określić bezpieczeństwo przyjmowania pterostilbenu.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Doświadczenia zostaną przeprowadzone na samcach myszy domowej stada Swiss. Przewidywana liczba zwierząt wynosi 240 osobniki.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

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: pterostilbene / epilepsy / seizure / convulsion / depression / seizure models / forced swim test / toxicity / brain / central nervous system / mice / rats / human

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzam, że pterostilben wykazuje liczne działania neurofarmakologiczne, m.in. wspomaga procesy uczenia się i pamięć, działa ochronnie w zwierzęcych modelach choroby Alzheimera i Parkinsona, wykazuje działanie przeciwlękowe oraz przeciwbólowe u zwierząt doświadczalnych.

Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że pterostilben wpływa na funkcje centralnego układu nerwowego, może więc oddziaływać też na aktywność drgawkową. Związek ten może również posiadać właściwości przeciwdepresyjne.

Brak jest danych dotyczących niekorzystnych działań pterostilbenu. Chociaż uważa się, że związek ten nie posiada silnego działania toksycznego, to nie zbadano dotychczas wpływu wysokich dawek tego związku na aktywność ruchową, koordynację ruchową oraz siłę mięśni szkieletowych. Pterostilben nie był dotychczas badany również pod kątem właściwości przeciwdepresyjnych.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

- A. Rozwinięcie teoretyczne istniejącej wiedzy w kierunku dokładniejszego poznania wpływu pterostilbenu na funkcje centralnego układu nerwowego, w szczególności jego właściwości przeciwdrgawkowych i przeciwdepresyjnych

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

- B. Poznanie ewentualnych działań niepożądanych pterostilbenu, co pozwoli na lepszą ocenę możliwości zastosowania terapeutycznego tego związku w szeregu chorób.
- C. Zastosowanie uzyskanej wiedzy w procesie poszukiwania nowych związków o działaniu przeciwdrgawkowym i/lub przeciwdepresyjnym.

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 czy też przeciwdepresyjnego 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 i przeciwdepresyjnego pterostilbenu. Przy zastosowaniu tych metod nie będzie również możliwe przeprowadzenie oznaczeń biochemicznych mających na celu zbadanie np. zmian poziomów neuroprzekaźników w centralnym układzie nerwowym. Co więcej, danych takich nie dostarczą również badania kliniczne, ponieważ nie ma możliwości przeprowadzenia oznaczeń biochemicznych w tkance mózgowej pacjentów, która jest miejscem działania substancji działających przeciwdrgawkowo czy przeciwdepresyjnie.

Zasada ograniczenia:

Liczba zwierząt zaplanowanych do doświadczeń została ograniczona do niezbędnego minimum, pozwalającego na rzetelną analizę statystyczną otrzymanych wyników. Jeżeli możliwe będzie rzetelne wyznaczenie dawki ED₅₀ pterostilbenu na podstawie wyników uzyskanych z trzech lub czterech grup zwierząt liczących po osiem osobników, nie będzie potrzeby podawania tego związku kolejnym grupom, co również ograniczy liczbę zwierząt wykorzystanych w doświadczeniu. 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. Dodatkowo krew oraz mózgi do badań biochemicznych zostaną pobrane od zwierząt, które wcześniej były wykorzystane w testach behawioralnych. 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 dla gryzoni, 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 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.