

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: **Ocena wpływu tanshinonu IIA i ar-turmeronu na zachowania lękowe, depresyjne i procesy pamięciowe w zwierzęcych modelach doświadczalnych**

2. Czas trwania projektu: 2,5 roku

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): tanshinin IIA, ar-turmeron, pamięć, lęk, depresja

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.

Danshen (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) jest stosowany od wieków w tradycyjnej medycynie chińskiej w terapii chorób sercowo-naczyniowych. Dominującym bioaktywnym składnikiem Danshen, jest tanshinon IIA (TAN IIA), który od wielu lat jest przedmiotem badań w zakresie terapii układu sercowo-naczyniowego i niedokrwienia mózgu. Wykazano, iż związek ten działa przeciwmiażdżycowo, kardioprotekcyjnie i neuroprotekcją w hodowlach komórkowych i zwierzęcych modelach doświadczalnych [Adams et al., 2013; Lee et al., 1991]. Z kolei ar-turmeron, jest związkiem występującym w kurkumie. Brak jest danych literaturowych dotyczących aktywności biologicznej w zakresie wpływu obu związków na procesy kognitywne, lękowe czy depresyjne.

Dostępne badanie behawioralne wykazały aktywność przeciwdrgawkową ar-turmeronu i TAN IIA [Buenafe et al., 2013, Orellana-Paucar, 2013]. Jednakże, wiele związków o działaniu antyepileptycznym wykazuje inne działania ośrodkowe, np. lamotrygina stosowana jest w terapii profilaktycznej w chorobie dwubiegunowej; gabapentyna działa przeciwlękowo i wykazuje właściwości neuroprotekcję. Niestety, większość leków przeciwpadaczkowych upośledza funkcje poznawcze [Serrano, Kanner, 2015]. Dlatego, celem planowanych badań będzie ocena wpływu TAN IIA i ar-turmeronu na procesy

lokomotoryczne, pamięciowe oraz zachowania lękowe i depresyjne, zarówno po podaniu jednorazowym, jak i chronicznym – przez 14 dni.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

- A. Rozwinięcie wiedzy teoretycznej w zakresie aktywności biologicznej TANIIA oraz ar-turmeronu
- B. Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na opracowywaniu nowych terapii zaburzeń lękowych, kognitywnych i pamięciowych.

Badania prowadzone będą we współpracy z Luxemburg Centre for Systems Biomedicine (LCSB). W ośrodku tym prowadzone są badania dotyczące aktywności przeciwdrgawkowej TAN IIA i ar-turmeronu z wykorzystaniem Danio rerio i myszy.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniach zostaną wykorzystane myszy samce szczepu Swiss. Liczba zwierząt wynosi 600 osobników.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Badania prowadzone będą z zachowaniem **ZASADY 3R**

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

Wykorzystałam następujące słowa kluczowe:

Tanshinone IIA, ar-turmerone, memory, anxiety, depression

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że:

- A. Nagromadzony materiał badawczy ze względu na brak danych literaturowych nie pozwala stwierdzić, jaki jest wpływ wybranych związków na objawy zachowania lękowe, depresyjne oraz procesy pamięciowe oceniane w zwierzęcych modelach doświadczalnych.
- B. Jedyne opublikowane badania dotyczą prokognitywnego działania TAN IIA na zaburzenia pamięci w zwierzęcych modelach choroby Alzheimera.

1. Doskonalanie

Zwierzęta

- Wykorzystywane zwierzęta (myszy) są utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku.
- Jednopłciowe grupy badawcze (samce) pozwolą na uniknięcie rywalizacji samców o samice oraz zredukowanie ilości zmiennych (takich jak płeć) na możliwy rozrzut otrzymanych wyników.
- Zastosowanie właściwej diety; zwierzęta będą karmione certyfikowaną paszą bytową.

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

-Stały kontakt i pomoc ze strony lekarza weterynarii pozwoli na zapewnienie odpowiednich warunków bytowych.

Pomieszczenie bytowe

- Zwierzęta będą przebywały w pomieszczeniu bytowym służącym tylko do tego celu, w którym nie będą wykonywane czynności takie jak: iniekcje, eksperyment, uśmiercanie.
- Pomieszczenie bytowe będzie oddzielone od pozostałych pomieszczeń co pozwoli na redukcję hałasu. Będzie to pomieszczenie wyposażone w stały system monitorowania temperatury i wilgotności, a także zapewniające cykl świetlny (12h ciemności i 12 h światła).

Pomieszczenie eksperymentalne i przygotowań

- Czynności takie jak iniekcje badanych substancji, będą wykonane w pokoju przygotowań a właściwe testy w pokoju eksperymentalnym .

Metoda

- Zastosowane metody badawcze zostały wybrane tak aby ograniczyć do minimum albo eliminować ból, cierpienie, dystres.
- Opracowane instrukcje postępowania zapewnią ich regularny i powtarzalny sposób wykonania co ograniczy stres zwierząt.
- Wszystkie czynności będą wykonywane przez znanego zwierzętom i doświadczonego eksperymentatora.
- Podawane zwierzętom w trakcie doświadczenia roztwory będą miały temperaturę zbliżoną do temperatury ciała gryzonia co zapewni uniknięcie szoku temperaturowego i uczucia dyskomfortu.
- Badane substancje będą rozpuszczane w soli fizjologicznej / 1% roztworze tween 80 / wodzie do iniekcji.
- Na końcu każdej procedury zwierzęta zostaną uśmiercone przez zastosowanie odpowiedniej metody, tj. inhalacja stężeniem CO₂ (stężenie powyżej 70%, metoda stopniowego napełniania) w ciągu 5 minut.
- Opiekun zostanie szczegółowo poinformowany przez eksperymentatora o ewentualnych objawach bólu, stresu, dyskomfortu zwierząt wymagających humanitarnego zakończenia procedury.
- Eksperymentator zgłasza pełną gotowość do przeprowadzenia zabiegu uśmiercania w przypadkach nagłych przez zastosowanie humanitarnej procedury uśmiercania.

2. Ograniczenie

- Liczba wykorzystanych zwierząt została ograniczona do poziomu niezbędnego do osiągnięcia celów, takich jak we wcześniejszych badaniach z wykorzystaniem postulowanych do wykonania procedur w których grupy badawcze liczyły adekwatną do liczebności wskazanej w przedkładanym wniosku.
- Zastosowany model badawczy został odpowiednio dobrany (myszy Swiss). Zapewnia to powtarzalność pomiarów i minimalizuje zmienność pozwalając na ograniczenie ilości wykorzystywanych zwierząt do niezbędnego minimum.
- Na ograniczenie ilości wykorzystanych zwierząt pozwalają także inne czynności minimalizujące zmienność i zwiększające powtarzalność pomiarów takie jak: stabilna pasza; zrównoważone środowisko; jednorodność grup badanych pod względem wieku, masy ciała oraz płci (samce); równy okres kwarantanny; ten sam/znany eksperymentator, zachowanie reżimu czasowego procedur.
- Precyzyjna i przemyślana grupa kontrolna z użyciem nośnika (0.9 % NaCl / 1% roztwór tween 80) poprawia jakość i dokładność wyników, co pozwala na zmniejszenie ilości wykorzystanych zwierząt.

3. Zastąpienie

- W celu zweryfikowania hipotezy badawczej nie można zastosować metody w której nie jest konieczne wykorzystanie zwierząt. W badaniach behawioralnych nie jest możliwe zastąpienie zwierząt kręgowych innym materiałem.

- Zastosowanie zwierząt w planowanym doświadczeniu pozwoli na poznanie działania badanych substancji na cały organizm i będące podstawą jego funkcjonowania tkanki, a także wzajemne interakcje 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.