

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Ocena adaptogennego działania preparatu AdaptES przygotowanego z korzeni *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. et Maxim.) Maxim.**
2. Czas trwania projektu 01.09.2019 – 01.09.2024
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) *Eleutherococcus*, adaptogeny, odporność, hepatoochrona
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.

Celem nadrzędnym projektu jest ocena adaptogennego działania preparatu AdaptES z korzeni *Eleutherococcus senticosus*, które wyraża się poprzez określenie działania hepatoochronnego, hepatotoksycznego, neurotoksycznego i immunostymulującego oraz wpływu na parametry krwi. Jest to preparat, który zawiera zarówno związki lipofilne i hydrofilne wyekstrahowane z jednego surowca z dodatkiem naryngeniny. Stanowi to nowe podejście do projektowania kompozycji preparatu, ponieważ większość dostępnych tego typu preparatów zawiera tylko frakcję hydrofilną. W preparacie AdaptES, uwzględniony został kompletny profil metabolomiczny rośliny, co wyraża się jako tzw. ekstrakt całkowity (*total plant extract*). W tym przypadku związki czynne mogą działać synergistycznie, co potwierdziły badania *in vitro*. Wstępne badania własne wykazały, że preparat AdaptES zawiera związki

chemiczne mogące pozytywnie wpływać na komórki wątroby i krwi [Załoski et al., 2016, zgłoszenie patentowe nr P.427208]. Preparat zwiększał proliferację leukocytów, co sugeruje potencjalne działanie adaptogenne. Wpływał na odporność ludzkich leukocytów, zmniejszając ich wrażliwość na zakażenie wirusem indykatorowym (VSV).

Badania zostaną przeprowadzone na 208 dorosłych osobnikach w wieku powyżej 8 tygodni (104 samców, 104 samic) szczepu BALB/c, podzielonych na 13 grup (n=16, po 8 samic i 8 samców w każdej grupie). Zwierzętom podawane będą doustnie preparaty zgodnie z procedurami opisanymi w pkt.7. Bezpośrednio po uśmierceniu pobrane zostaną narządy (wątroba: od 1 myszy zbadane zostaną 2-3 fragmenty; mózg: od 1 myszy zbadane zostaną 4-5 fragmentów), które poddane zostaną analizom histopatologicznym. Pośmiertnie zostanie pobrana również krew do badań morfologicznych. Analizy histopatologiczne oceniane będą przy zastosowaniu mikroskopu świetlnego.

Jak dotąd nie poznano wpływu preparatu AdaptES na procesy biochemiczne zachodzące w komórkach wątroby i mózgu oraz jego wpływu na parametry krwi.

Załoski D, Olech M., Galanty A., Verpoorte R., Kuźniewski R., Nowak R., Bogucka-Kocka A., Phytochemical content and pharma-nutrition study on *Eleutherococcus senticosus* fruits intractum. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2016; 1-10.

Załoski D., Kuźniewski R., Preparat o działaniu adaptogennym na bazie ekstraktu z *Eleutherococcus senticosus* i sposób wytwarzania preparatu o działaniu adaptogennym na bazie ekstraktu z *Eleutherococcus senticosus*. Zgłoszenie patentowe nr P.427208. (IX.2018).

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

W doświadczeniu wykorzystane będą 208 myszy.
--

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

---

<sup>1</sup> 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:

\_\_EBSCO; \_\_PUBMED; \_\_Google Scholar; \_\_ ScienceDirect; \_\_Web of Science (JCR);

Wykorzystałam słowa kluczowe:

*Eleutherococcus adaptogens/Eleutherococcus hepatotoxicity/Eleutherococcus blood/Eleutherococcus neurotoxicity/*

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzam, że:

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że: preparat poddany opisanym we wniosku procedurom nie był analizowany przez inne jednostki badawcze z uwzględnieniem zaplanowanych czynności.

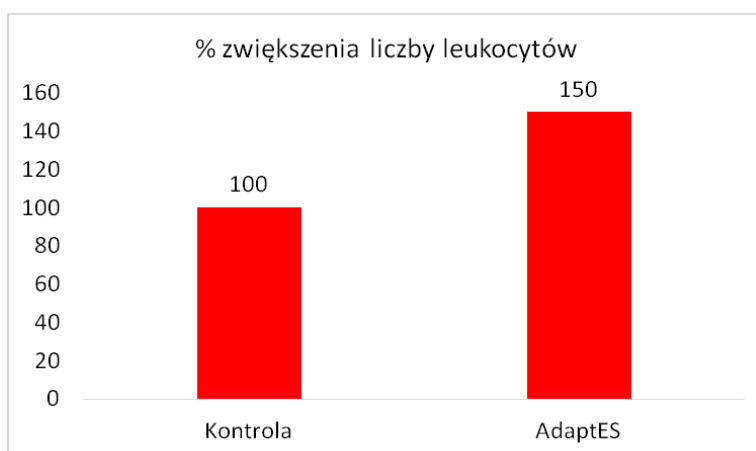
B. Brak jest danych dotyczących: wpływu preparatu AdaptES z *Eleutherococcus senticosus* na strukturę hepatocytów, komórek nerwowych i parametry krwi, w zaplanowanym modelu badawczym.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

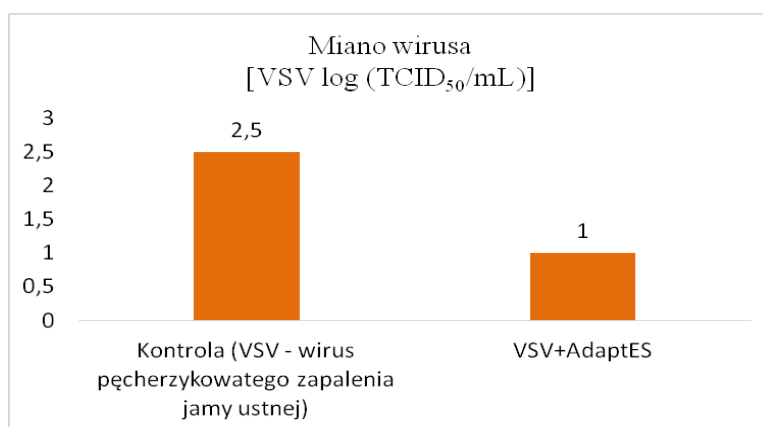
A/ Rozwinięcie poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku wpływu preparatu z *E. senticosus* na funkcję narządów (wątroba, mózg) i parametry krwi. Uzyskanie danych z proponowanego projektu będzie stanowić odpowiedź, czy preparat AdaptES wykazuje działanie hepatoprotektywne, hepatotoksyczne, adaptogenne i czy korelują z danymi *in vitro*. W dostępnej literaturze brak jest danych dotyczących określenia powyższych działań dla wskazanego w projekcie preparatu. Własne badania *in vitro* wykazały, że preparat zwiększa liczbę leukocytów (Wyk. 1), indukuje odpowiedź wrodzoną po stymulacji leukocytów preparatami, w obecności wirusa indykatorowego VSV (Wyk. 2). Ponadto nie działa toksycznie na hepatocyty (1000 µg/ml), zauważono zwiększenie proliferacji hepatocytów. W teście genotoksyczności (test Ames) dla preparatu AdaptES, jako nowego produktu, nie wykazano jego mutagenności (5 mg/szalka i 15 mg/szalka). Przedstawione wyniki badań *in vitro* wpisują się w ogólnoświatowe kryteria dla tzw. preparatów adaptogennych [1] i zostały wykonane z zastosowaniem większości rekomendowanych dla nich testów *in vitro*. Badania nie mogą zostać przeprowadzone na organizmach o niższym stopniu rozwoju niż ssaki, ponieważ dotyczą wielu układów. Wymagany jest więc organizm stałocieplny, posiadający rozwinięty układ krwionośny/krwiotwórczy, gruczoły trawienne (wątroba), układ immunologiczny i nerwowy, w którym zachodzą procesy analogiczne do tych zachodzących w układzie człowieka. Myszy szczepu BALB/c traktowane są jako modelowe zwierzęta w wielu doświadczeniach fizjologicznych, dzięki czemu wyniki uzyskane w ramach niniejszego doświadczenia będzie można przedyskutować z dostępną bogatą literaturą. Ze względu na

podobieństwo anatomii i fizjologii, jako model doświadczalny wybrano myszy, dzięki czemu wyniki z dużym prawdopodobieństwem przekładać się będą na organizm ludzki.

Liczba zwierząt w doświadczeniach została zredukowana do koniecznego minimum (16 zwierząt w grupie; 8 samic i 8 samców; z uwzględnieniem liczby danych koniecznych do obliczeń statystycznych). W planowanym eksperymencie czas jego trwania został skrócony do czasu minimalnego, po którym powinien pojawić się efekt farmakologiczny, 7 i 14 dni. Taka liczba dni jest zgodna z danymi literaturowymi dla badanych aktywności [2,3], jednocześnie pozwoli na skrócenie czasu narażenia zwierząt na stres.



Wykres 1. Wpływ preparatu AdaptES na proliferację leukocytów.



Wykres 2. Obniżenie miana wirusa VSV po stymulacji zainfekowanych leukocytów preparatem AdaptES.

B/ Wykorzystanie uzyskanej wiedzy polegające na praktycznym zastosowaniu preparatu w grupie osób o obniżonej odporności, zagrożonych chorobami cywilizacyjnymi, sportowców. Ponadto nowy preparat AdaptES (zgl. pat. P.427208) o działaniu adaptogennym będzie alternatywą dla istniejących na rynku,

których działanie, często nie zostało potwierdzone w modelu zwierzęcym, z uwzględnieniem wpływu na aktywność wątroby.

Wykorzystanie w planowanym eksperymencie plastikowych sond pokarmowych poprawi komfort zwierząt w trakcie wykonywania procedury. Miękkie, zakończone zaokrągloną końcówką redukują ryzyko nieprawidłowego umieszczenia w przewodzie pokarmowym zwierzęcia. Polipropylenowe sondy są elastyczne, co redukuje możliwość spowodowania urazów w trakcie karmienia. Przezroczysta rurka ułatwia obserwację w trakcie dostarczania substancji. Jednorazowe użycie pozwala na wyeliminowanie kosztów czyszczenia i ryzyka mieszania się składników.

- [1] Panossian et al., 2018, Novel molecular mechanisms for the adaptogenic effects of herbal extracts on isolated brain cells using systems biology. *Phytomedicine* 50, 257-84.
- [2] Tong et al., 2015, Hepatoprotective activity of flavonoids from *Cichorium glandulosum* seeds *in vitro* and *in vivo* carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. *J. of Ethnopharmacology* 174, 335-63.
- [3] Akther et al., 2014, Hepatoprotective activity of LC–ESI-MS standardized *Iris spuriarhizome* extract on its main bioactive constituents. *Phytomedicine* 21, 1202-07.

#### 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.