

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Ocena właściwości przeciwdrgawkowych kwasu elagowego w wybranych modelach drgawek padaczkowych u myszy

2. Czas trwania projektu 01.08.2019 – 01.08.2023

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) ellagic acid / central nervous system / seizure threshold / epilepsy / mice

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.

Padaczka jest przewlekłym i poważnym schorzeniem neurologicznym. Patomechanizm tej choroby nie jest do końca wyjaśniony. Główną formą leczenia padaczki jest farmakoterapia. Niestety spora część pacjentów pozostaje lekooporna, a same leki mogą wywoływać liczne działania niepożądane. Zatem istnieje potrzeba poszukiwania skuteczniejszych i bezpieczniejszych leków o działaniu przeciwdrgawkowym.

Kwas elagowy jest związkiem polifenolowym występującym w wielu owocach i warzywach, wykazującym właściwości antyoksydacyjne, przeciwnowotworowe, antymutagenne, przeciwzapalne. Wyniki badań sugerują, że może on aktywować wiele mechanizmów sygnalizacji komórkowej

mających na celu osłabienie lub spowolnienie rozwoju zaburzeń neurodegeneracyjnych, wykazując przy tym także silne działanie neuroprotekcyjne. Wpływ kwasu elagowego na aktywność drgawkową nie był dotąd badany. Dlatego celem proponowanych doświadczeń jest ocena jego wpływu na próg pobudliwości drgawkowej w trzech różnych modelach drgawek u myszy oraz ocena jego działań niepożądanych. Otrzymane wyniki pozwolą na poszerzenie wiedzy na temat działania kwasu elagowego. Wskazanie jego ewentualnych właściwości przeciwdrgawkowych może pomóc w zaprojektowaniu nowych leków przeciwpadaczkowych lub w opracowaniu i wdrożeniu nowych metod leczenia padaczki.

Planowane badania behawioralne zostaną przeprowadzone na myszach. Zastąpienie zwierząt doświadczalnych innym materiałem doświadczalnym w celu oceny wpływu badanej substancji na próg drgawkowy jest niemożliwe.

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

W doświadczeniu weźmie udział maksymalnie 458 myszy domowych (*Mus musculus*), stado Swiss

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

Proponowane doświadczenie zostało zaprojektowane z myślą o efektywnej realizacji zasad zastąpienia, ograniczenia i udoskonalenia (tzw. zasada 3R – replacement, reduction and refinement).

Replacement: Planowane badania wymagają obserwacji całego organizmu, stąd nie można w nich zastosować metody wykluczającej wykorzystanie zwierząt doświadczalnych. Badania *in silico* oraz *in vitro* stosowane w przypadku wielu leków dostarczają informacji na temat molekularnych mechanizmów ich działania. Badania behawioralne oceniające właściwości przeciwdrgawkowe substancji nie pozwalają na zastąpienie zwierząt kręgowych innymi zwierzętami. W opracowanym projekcie doświadczenia, racjonalne i praktyczne jest wykorzystanie metod *in vivo*, a dostępna literatura wskazuje, że mysz domowa jest właściwym gatunkiem zwierząt laboratoryjnych do wykonania tego zadania.

Reduction: Liczba zwierząt w poszczególnych grupach doświadczalnych jest ograniczona do najmniejszej, jaka jest możliwa dla uzyskanie spójnych i powtarzalnych wyników oraz ich wiarygodną analizę statystyczną. Podana we wniosku ogólna ilość myszy została oszacowana na podstawie założeń teoretycznych, dlatego też rzeczywista ilość zwierząt wykorzystanych w badaniach może być mniejsza. Badania zostaną przeprowadzone przez doświadczonych eksperymentatorów, zaznajomionych z aktualnie obowiązującymi przepisami dotyczącymi zwierząt doświadczalnych i ich humanitarnego traktowania. Wszystkie testy oceniające działania niepożądane badanych związków zostaną przeprowadzone na tych samych zwierzętach, co pozwoli na znaczne zredukowanie liczby zwierząt użytych w doświadczeniu.

Refinement: Zwierzęta będą przetrzymywane w warunkach odpowiednich dla swojego gatunku. Klatki zaopatrzone będą w elementy wzbogacające środowisko dla gryzoni (domki plastikowe, rurki tekturowe, materiał gniazdowy). Przed rozpoczęciem doświadczeń podczas 7-dniowego okresu adaptacji do warunków laboratoryjnych zwierzęta będą poddawane procedurze handlingu, w trakcie której przyzwyczajane będą do obecności eksperymentatora i jego dotyku, co pozwoli na zminimalizowanie stresu zwierząt podczas dalszych etapów procedury doświadczalnej. Przed każdym testem zwierzęta będą przechodziły 30-minutowy okres aklimatyzacji do pomieszczeń, w których przeprowadzane są doświadczenia. Niestety ze względu na możliwość interakcji pomiędzy badanymi substancjami a lekami uspokajającymi i/lub przeciwbólowymi nie jest możliwe ich podanie. Stosowane będzie jednak znieczulenie miejscowe w modelach drgawek indukowanych elektrycznie. W planowanych testach drgawkowych aktywność drgawkowa trwa kilka-kilkadziesiąt sekund, po czym zwierzęta poddawane będą natychmiastowej eutanazji. Nie dojdzie zatem do długotrwałego pogorszenia stanu zdrowia myszy. Zwierzęta będą znajdowały się pod stałą kontrolą lekarza weterynarii.

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych PUBMED oraz Web of Science (JCR). Wykorzystano słowa kluczowe: ellagic acid / seizure / central nervous system / seizure threshold / epilepsy /mice / rats

---

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

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzono, że:

- A. dane doświadczalne wskazują na to, że kwas elagowy może aktywować wiele mechanizmów sygnalizacji komórkowej w celu osłabienia lub spowolnienia rozwoju zaburzeń neurodegeneracyjnych, wykazując przy tym także właściwości neuroprotekcyjne.
- B. dane doświadczalne pokazują również, że kwas elagowy wpływa na funkcjonowanie ośrodkowego układu nerwowego m.in. zapobiegając deficytom poznawczym u zwierząt doświadczalnych
- C. brak jest danych na temat wpływu kwasu elagowego na próg drgawkowy u zwierząt doświadczalnych zarówno w modelach drgawek indukowanych chemicznie, jak i elektrycznie

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

- A. rozwinięcie wiedzy teoretycznej w zakresie aktywności biologicznej kwasu elagowego.
- B. określenie wpływu kwasu elagowego na próg drgawkowy u zwierząt doświadczalnych oraz ocenę jego ewentualnych działań niepożądanych.
- C. zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na wskazaniu kierunku poszukiwań nowych leków przeciwdrgawkowych oraz w opracowaniu nowych sposobów leczenia padaczki

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.