

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „Skryning przeciwdrgawkowego działania 7 nowych pochodnych 1,2,4-triazolo-3-tionu w modelu padaczki psychoruchowej (6 Hz) u myszy domowej stado Swiss”

2. Czas trwania projektu **6 miesięcy (rozpoczęcie 01.07.2018 - zakończenie 01.01.2019)**

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): **1,2,4-triazolo-3-tion, drgawki psychoruchowe, drgawki 6 Hz, skryning przeciwdrgawkowy, mysz domowa stado Swiss**

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 to jedna z najczęstszych chorób neurologicznych ludzi dorosłych. Jest to choroba przewlekła, przebiegająca w postaci napadów utraty świadomości połączonej z objawami drgawkowymi, określanymi często mianem „napadów”. Niestety, około 30% pacjentów chorych na padaczkę ma postać oporną na leczenie jednym lekiem przeciwpadaczkowym i wymaga stosowania najnowocześniejszych leków lub podawania wielu leków jednocześnie, co może wywoływać działania niepożądane. Wielu naukowców z dziedziny farmakologii, chemii leków jak i biologii molekularnej prowadzi szereg badań poszukując takiej substancji, która wykazywałaby właściwości przeciw-drgawkowe i jednocześnie nie wywoływała skutków ubocznych. Biorąc pod uwagę potwierdzone już przez nasz zespół działanie przeciwdrgawkowe niektórych pochodnych 1,2,4-triazolo-3-tionu w teście maksymalnego wstrząsu elektrycznego (MES) u myszy domowej stado Swiss, postanowiliśmy poszerzyć zakres badań o zupełnie nowe pochodne, aby wskazać te związki, które wykazują najskuteczniejsze działanie w hamowaniu napadów drgawkowych w modelu doświadczalnej padaczki u myszy domowej stado Swiss. Celem proponowanego projektu jest dokonanie skryningu przeciwdrgawkowego działania 7-miu

nowych pochodnych 1,2,4-triazolo-3-tionu (TPB-2, TPB-4, TPB-8, TPF-32, TPF-34, TPF-38 i TB-1) w teście drgawek psychoruchowych (limbicznych), opornych na farmakoterapię, u myszy domowej stado Swiss. Wyniki uzyskanych badań pozwolą wskazać czy badane pochodne 1,2,4-triazolo-3-tionu chronią zwierzęta przed aktywnością drgawkową w teście drgawek psychoruchowych (6 Hz). Ponadto, wyznaczony zostanie optymalny czas od ich podania do maksymalnego działania przeciwdrgawkowego.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Dorośle samce myszy domowej stado Swiss – 112 szt.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w elektronicznych bazach danych: PubMed, Web of Science, Scopus, Ebsco. Wykorzystałem angielskie słowa kluczowe: 1,2,4-triazolo-3-tion, drgawki psychoruchowe, drgawki 6 Hz, skryning przeciwdrgawkowy, mysz domowa stado Swiss.

Na podstawie przeszukanej literatury oraz wyników uzyskanych z dotychczas prowadzonych badań przygotowany został projekt, którego zamysłem jest wstępny skryning i ocena jakościowa przeciwdrgawkowych właściwości 7-miu nowych pochodnych 1,2,4-triazolo-3-tionu w modelu drgawek psychoruchowych (6 Hz), będących modelem drgawek opornych na leczenie, u myszy domowej stado Swiss, po ich dootrzewnowym, jednorazowym podaniu w stałej dawce 300 mg/kg. Przeprowadzone będą 4 serie doświadczeń: tj. dla 4 różnych czasów podania, co jest wymogiem realizacji projektu ze względu na kontynuację badań i odniesienie uzyskanych wyników do wcześniej uzyskanych wyników w 4 czasach dla tych pochodnych 1,2,4-triazolo-3-tionu z testu MES.

Opisane doświadczenia zostały zaplanowane z uwzględnieniem zasady 3R. W celu ograniczenia (REDUCTION) liczby zwierząt w teście drgawek psychoruchowych (6 Hz), wykorzystane zostaną maksymalnie tylko 4 samce myszy domowej stado Swiss w każdej grupie badanej. Jest to najmniejsza liczba zwierząt wykorzystywana w badaniach skryningowych, oceniających działanie przeciwdrgawkowe testowanych substancji. Liczba zwierząt zaplanowanych do doświadczeń została ograniczona do niezbędnego minimum, pozwalającego na rzetelną analizę otrzymanych wyników. Badania *in vitro* stosowane w przypadku substancji o potencjalnym działaniu przeciwdrgawkowym dostarczają jedynie informacji na temat mechanizmów ich działania w odniesieniu do receptorów, enzymów lub kanałów jonowych. Jednakże, ustalenie zarówno nowych strategii leczenia jak i przeciwdrgawkowego działania 7-miu nowych pochodnych 1,2,4-triazolo-3-tionu wymaga wprowadzenia eksperymentalnych modeli drgawkowych w warunkach badań *in vivo* u zwierząt. W chwili obecnej, mając na uwadze uzyskanie wiarygodnych i rzetelnych wyników z badań przyżyciowych nie ma możliwości zastąpienia (REPLACEMENT) proponowanych badań w warunkach

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

in vitro, bez udziału zwierząt laboratoryjnych. Dostępne piśmiennictwo wskazuje, że myszy domowe stado Swiss są właściwym gatunkiem zwierząt laboratoryjnych do przeprowadzenia zaplanowanych doświadczeń. W celu udoskonalenia (REFINEMENT), zwierzęta będą przetrzymywane w warunkach odpowiednich dla swojego gatunku, a podczas 7-dniowego okresu adaptacji do warunków laboratoryjnych myszy domowe stado Swiss poddawane będą procedurze handlingu, w trakcie której zwierzęta przyzwyczajane będą do obecności badacza i jego dotyku, co pozwoli zminimalizować stres myszy domowej stado Swiss podczas kolejnych etapów procedury doświadczalnej, tj. podawania dootrzewnowego pochodnych 1,2,4-triazolo-3-tionu i wywoływania drgawek psychoruchowych w teście drgawek 6 Hz. Niestety, ze względu na możliwość wystąpienia interakcji farmakokinetycznych pomiędzy pochodnymi 1,2,4-triazolo-3-tionu a lekami uspakajającymi, znieczulającymi i przeciwbólowymi, nie będzie możliwe podanie tych leków. Jednakże czas trwania poszczególnych etapów procedury jest krótki, zatem nie dojdzie do długotrwałego pogorszenia stanu zdrowia myszy domowej stado Swiss. W planowanym teście drgawek psychoruchowych, aktywność drgawkowa będzie trwać maksymalnie 60 sekund, po czym zwierzęta będą poddawane natychmiastowej eutanazji. Wszystkie etapy procedury będą prowadzone przez doświadczonych eksperymentatorów, posiadających długoletnie doświadczenie w pracy ze zwierzętami laboratoryjnymi. Ponadto, zwierzęta będą znajdowały się pod stałą opieką lekarza weterynarii. Zgodnie z Dyrektywą Unijną 2010/63/EU, humanitarnymi punktami końcowym (humane endpoints) w zaplanowanym doświadczeniu będą oznaki działania pochodnych 1,2,4-triazolo-3-tionu manifestujące się u myszy domowej stado Swiss objawami takimi jak: śpiączka, wystąpienie zwiększonej częstości oddechów (>250 / min.), wystąpienie znacznego wysiłku oddechowego z silną komponentą oddychania brzuszego, silne odwodnienie zwierząt. W celu wykrycia pojawienia się wymienionych objawów, samce myszy domowej stada Swiss będą obserwowane w klatkach doświadczalnych co 15 min, po podaniu dootrzewnowym (i.p.) 7 pochodnych 1,2,4-triazolo-3-tionu. W przypadku stwierdzenia wystąpienia opisanych wyżej objawów humanitarnych punktów końcowych u zwierząt zastosowana będzie natychmiastowa eutanazja z użyciem CO₂ poprzez stopniowe wysycanie komory CO₂ do 70% (Procedura 1, Czynność 4). Zgodnie z Dyrektywą Unijną 2010/63/EU ustanowienie humanitarnych punktów końcowych przed rozpoczęciem eksperymentu pozwala zapobiec niepotrzebnemu bólowi zwierząt i cierpieniu, zapewniając jednocześnie dokładne i rzetelne uzyskanie wyników. Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na wskazanie czy pochodne 1,2,4-triazolo-3-tionu (i ewentualnie, które z nich) wykazują działanie ochronne (przeciwdrgawkowe) przeciw drgawkom psychoruchowym w modelu drgawek 6 Hz u myszy domowej stado Swiss.

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.