

Приложение 9

**НЕТЕХНИЧЕСКО ОБОБЩЕНИЕ НА ПРОЕКТ
ЗА РАБОТА С ОПИТНИ ЖИВОТНИ**

**ТЕМА: СКРИНИРАНЕ НА НОВОСИНТЕЗИРАНИ КУМАРИНОВИ И ХРОМЕНОВИ
СЪЕДИНЕНИЯ (ФАЗА II И III) С ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ED50 И TD50 И ПРИЛАГАНЕ
НА 6 HZ МОДЕЛ НА ФАРМАКОРЕЗИСТЕНТНА ЕПИЛЕПСИЯ**

Финансиран от МУ- София, Съвет по Медицински Наука, Грант 2016 г

Авторски колектив: Ръководител: проф. д-р Славина Кирилова Сурчева, дм
Членове на изследователския екип: д-р Павлина Ангелова Гатева, дм; д-р Виолина Ангелова
Стойановар дх; доц д-р Яна Димитрова Чекаларова, дб; доц. д-р Николай Георгиев Василев, дх; д-
р Радка Кирилова Тафраджийска, дм; д-р Юлиан Тенчев Войников, дф; Соня Иванова Калинова
(лаборант), Енрико Медури (студент)

НАИМЕНОВАНИЕ НА ПРОЕКТА	СКРИНИРАНЕ НА НОВОСИНТЕЗИРАНИ КУМАРИНОВИ И ХРОМЕНОВИ СЪЕДИНЕНИЯ (ФАЗА II И III) С		
Продължителност на проекта	1 година - от май 2016 до май 2017		
Ключови думи	Кумарини, хромени, противогърчова активност, фармакорезистентна епилепсия		
Цел на проекта (в съответствие с чл. 4 на Наредба 20 от 1 ноември 2012г. за минималните изисквания за защита и хуманно отношение към опитните животни и изискванията към обектите за използването, отглеждането и/или доставката им)	Фундаментални научни изследвания	Да	
	Транслационни или приложни изследвания	Да	
	Разработване, производство или изпитване на качеството, ефективността и безопасността на лекарства, храни и фуражи и други вещества или продукти	Да	
	Защита на природната среда с оглед опазване здравето на хората и животните и тяхното благосъстояние		Не
	Изследвания, насочени към опазване на биологичните видове животни		Не
	За обучение с цел придобиване, поддържане или подобряване на професионалните умения в средните специални училища, колежите или висшите учебни заведения		Не
Съдебномедицински изследвания		Не	

	Поддържане на колонии от генетично изменени животни, които няма да бъдат използвани в други опити		Не
<p>Описание на целта на проекта: (нови научни постижения, медицински изследвания и др.)</p>	<p>Предлаганият проект представлява следващ етап от работата на Екипа по скриниране на новосинтезирани кумаринови и 2Н-заместени хидразид-хидразони за установяване на противогърчова и потенциално антиепилептична активност. След като синтезирахме, охарактеризирахме и проведохме първоначален скрининг на различно функционализирани 6 кумаринови и 2Н-хроменови хидразид-хидразони чрез тестовете с максимален електрошок (MES), подкожно инжектиране на пентилентетразол (scPTZ) и rotarod тест при мишки (фаза I), нашата цел сега е: 1. Оценка на ED50 и на TD50 на същите вещества (фаза II) и 2. Тестване с 6Hz модел на психомоторни припадъци (фаза III) за установяване на евентуална приложимост при парциални рефрактерни на лечение припадъци. 3. Разширяване на скрининга с включване на 3 новосинтезирани пиразол-съдържащи кумарини, получени след циклизация на ацилхидразони.</p>		
<p>Потенциални ползи от осъществяването на проекта: (ползи за здравето на човека и животните, научни постижения и др.)</p>	<p>В резултат от работата ще бъдат определени средните ефективни (ED50) и токсични дози (TD50) на 9 новосинтезирани антиепилептични кандидат-лекарства. Тази информация е критично важна за определяне на безопасната и ефикасна доза за приложение при хора.</p>		

<p>Вид и брой на опитните животни, които се очаква да бъдат използвани в проекта</p>	<p>Ще бъдат тествани 9 вещества, всяко едно в 5 различни концентрации в 3 теста (MES, PTZ и 6Hz). Т.е. реално броят на групите е 135. Във всяка група влизат по 4 животни или общо 540. Това е абсолютният минимум, както по литературни данни, така и в съответствие с проведена консултация със статистик. Резултатът се отчита като положителен, ако при поне 50% т.е. 2 от 4 животни се постигне протекция. Построява се крива доза-ефект и се определя ефективната доза за 50% от опитните животни. За построяването на тази крива са необходими поне 5 точки, което обуславя необходимостта от използването на минимум 5 групи с различна концентрация на тестваните вещества.</p>
<p>Очаквани неблагоприятни ефекти, вероятното ниво на тежест на опитите и увреждане на животните, както и съдбата на животните след приключването на опитите</p>	<p>Ние НЕ очакваме при еднократното третиране да има някакви дълготрайни последици за повечето животни. При интраперитонеалното инжектиране то може да изпита лек дискомфорт, което отговоря на ЛЕКА степен на тежест на опитите. Възможно е при прилагането на много ниски дози от тестваните вещества да не може да се постигне добро протектиране и да се наблюдава еднократен гърч, което отговаря на СРЕДНА степен на тежест на опитите. В отделни случаи съществува риск от внезапна смърт, което отговаря на ТЕЖКА степен на тежестта на опита. Самият гърч при животните се проявява като тонична екстензия на крайниците, която трае няколко секунди, или с клонус, който трае до 5 секунди, или с потрепване на вибрисите и S-образно извиване на опашката (феномен на Straub). С оглед на неговата безопасност, то ще бъде интензивно наблюдавано от ветеринарен лекар и при необходимост и по преценка на ветеринарния лекар ще има готовност за прилагане на диазепам.</p>
<p>Въвеждане на принципите на заместване, намаляване и облекчаване</p>	
<p>I. Заместване: Обяснете защо е необходимо използването на опитни животни и защо не могат да бъдат приложени алтернативни методи</p>	<p>Определянето на средните ефективни и токсични дози се прави на опитни животни, най-често гризачи. Това гарантира надеждност при оценка на безопасността и ефикасността на дозите, които следва да се прилагат при хора.</p>

<p>2. Намаляване: Обяснете как е осигурено използването на минимален брой животни</p>	<p>Използвани са статистически методи за определяне на минималния брой животни в група, така че да осигурим достоверни резултати, като сме взели предвид факта, че самото прилагане на експерименталната процедура може да доведе до смърт на опитното животно.</p>
<p>3. Облекчаване:</p> <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Обяснете избора на животните и защо избраният модел на опитната постановка е най-облекчен; <input type="checkbox"/> Обяснете основните мерки, които са предприети за намаляване на страданието на животните 	<p>Животните ще бъдат тествани еднократно (едно вещество в една доза при само един от трите теста), след което ще бъдат връщани във вивариума. Осигурено е постоянно наблюдение от ветеринарен лекар с готовност за прилагане на диазепам при нужда. Ще прилагаме местен анестетик в мястото на поставяне на електродите. Животните ще бъдат поставени в стандартна лабораторна среда, със стайна температура и влажност, с достъп до храна и вода ad libitum.</p>