

# Raport z wykonania zadania 7

---

---

## **Cel zadania**

Celem zadania było sprawdzenie, czy badane preparaty poprawią przeżywalność zwierząt z wyindukowaną cukrzycą.

## **Wykonanie**

W eksperymencie wykorzystano samce szczurów szczepu Sprague-Dawley o masie 250-300g. Zwierzęta, zarówno w trakcie hodowli jak i w trakcie eksperymentu, karmione były paszą bezsojową o obniżonej zawartości fitoestrogenów. Cukrzycę doświadczalną wywoływano przez dootrzewnową iniekcję roztworu streptozotocyny w dawce 70 mg/kg masy ciała. Zwierzęta po iniekcji znakowano numerowanymi klipsami. 7 dni po iniekcji zwierzęta ważono i wykonywano pomiar glikemii we krwi żyłnej. Warunkiem uznania zwierzęcia za obciążone cukrzycą i włączenia do eksperymentu było jednoczesne spełnienie następujących warunków:

- spadek masy ciała o co najmniej 10%
- wartość glikemii przekraczająca 200 mg%.

Zwierzęta spełniające jednocześnie powyższe kryteria alokowano w sposób losowy do 4 grup eksperymentalnych liczących po 40 osobników każda. Utworzono grupy eksperymentalne otrzymujące następujące dawki preparatu w wodzie pitnej:

- 0 mg kwasu gallusowego/kg masy ciała/ dobę
- 2,5 mg kwasu gallusowego/kg masy ciała/ dobę
- 5 mg kwasu gallusowego /kg masy ciała/ dobę
- 10 mg kwasu gallusowego /kg masy ciała/ dobę

W badaniach założono standaryzację badanego preparatu na zawartość kwasu galusowego, dlatego dawki wyrażone są jako masa polifenoli ogółem w preparacie w przeliczeniu na kwas galusowy.

Na podstawie wcześniejszych doświadczeń wykazano, że obecność badanego preparatu w najwyższej testowanej dawce w wodzie pitnej nie wpływa na ilość płynu spożywanego przez

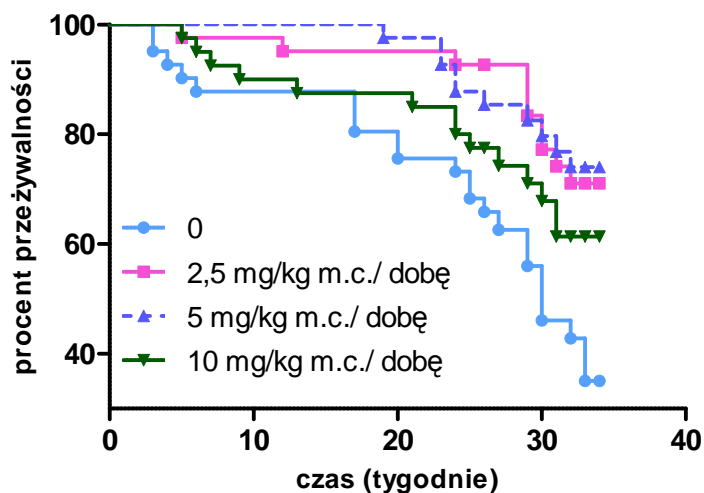
zwierzęta. Na tej podstawie przyjęto tą drogę podawania badanego preparatu. Zwierzęta w grupie kontrolnej otrzymywały czystą wodę pitną.

Zwierzęta umieszczone były w klatkach po nie więcej niż 5 osobników w jednej (położenie klatek na półkach w pokoju bytowania zwierząt zmieniano w sposób sterowany). Co 7 dni dokonywano pomiarów masy ciała. Na tej podstawie obliczano masę preparatu jaką powinny w ciągu doby spożyć zwierzęta w danej klatce, by przyjąć określoną dawkę. Codziennie odpowiednia masa preparatu była rozpuszczana w 0,5 litra wody pitnej i podawana zwierzętom.

Codziennie rejestrowano padnięcia zwierząt, a co 7 dni ich masę i glikemię.

## Wyniki

### Preparat EO4



**Ryc. 1** Krzywe przeżycia zwierząt z wyindukowaną cukrzycą suplementowanych preparatem EO4.

W grupach zwierząt suplementowanych EO4 stwierdzono dłuższy czas przeżycia, co ilustrują dane przedstawione na Ryc.1 oraz w Tabelcy 1.

**Tablica 1** Średni czas przeżycia zwierząt cukrzycowych suplementowanych preparatem EO4.

grupa eksperymentalna	średni czas przeżycia (95% przedział ufności) [tygodnie]
0 mg/kg m.c./d	26,4 (23,4 - 29,5)
2,5 mg/kg m.c./d	31,0 (29,2 - 32,8)
5 mg/kg m.c./d	31,3 (30,1 - 32,5)
10 mg/kg m.c./d	28,5 (25,8 - 31,2)

Porównanie krzywych przeżycia testem Gehana-Breslowa-Wilcoxona (z poprawką na porównania wielokrotne) wykazuje istotne różnice dla grup suplementowanych EO4 w dawce 2,5 i 5 mg/kg m.c./dobę w stosunku do grupy placebo.

Przeżycie grupy suplementowanej EO4 w dawce 10 mg/kg m.c./dobę nie różniło się istotnie od grupy placebo, co przedstawiają dane w Tablicy 2.

**Tablica 2** Porównanie krzywych przeżycia zwierząt cukrzycowych suplementowanych preparatem EO4.

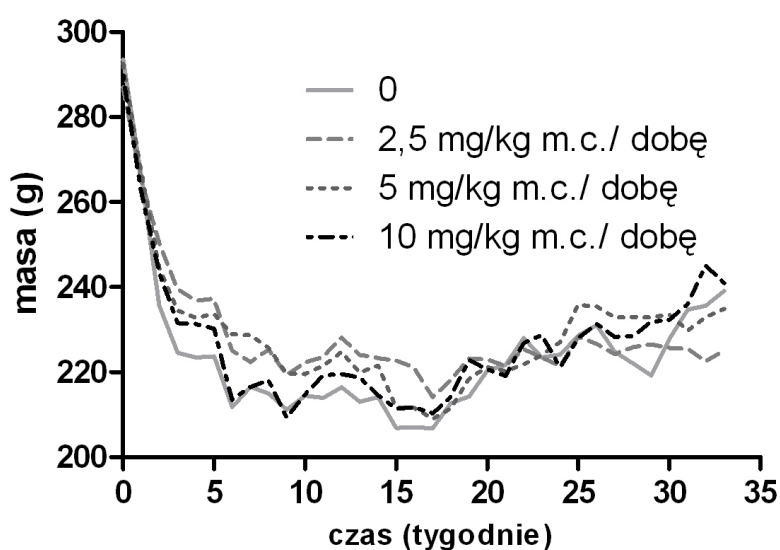
porównywane grupy	wartości p – test Gehana-Breslowa-Wilcoxona (po uwzględnieniu poprawki Bonferroniego na porównania wielokrotne)
0 vs. 2,5 mg/kg m.c./d	p<0,01
0 vs. 5 mg/kg m.c./d	p<0,01
0 vs. 10 mg/kg m.c./d	n.s.

Do podobnych wniosków prowadzi zestawienie wartości proporcjonalnego ryzyka (*hazard ratio*) (Tablica 3).

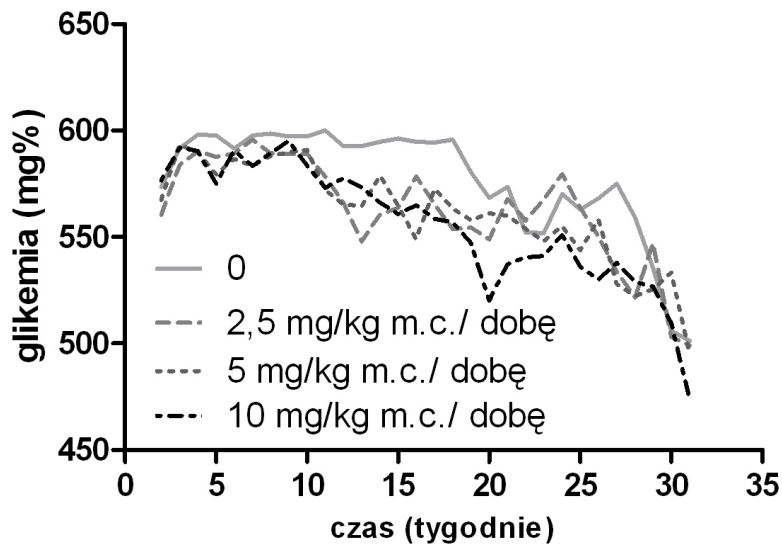
**Tablica 3** Zestawienie wartości proporcjonalnego ryzyka (*hazard ratio*) dla krzywych przeżycia zwierząt cukrzycowych suplementowanych preparatem EO4.

porównywane grupy	wartości proporcjonalnego ryzyka (95% przedział ufności)
0 vs. 2,5 mg/kg m.c./d	3,10 (1,45 - 6,59)
0 vs. 5 mg/kg m.c./d	3,18 (1,50 - 6,74)
0 vs. 10 mg/kg m.c./d	1,89 (0,86 - 4,14)

Nie zaobserwowano wpływu podawania preparatu na masę ciała, co ilustrują dane wskazane na Ryc. 2. (zmiana masy ciała zwierząt suplementowanych EO4). Podawanie preparatu pozostało również bez wpływu na glikemię suplementowanych zwierząt, co ilustrują dane przedstawione na Ryc. 3.



**Ryc. 2** Masa ciała zwierząt cukrzycowych suplementowanych preparatem EO4.

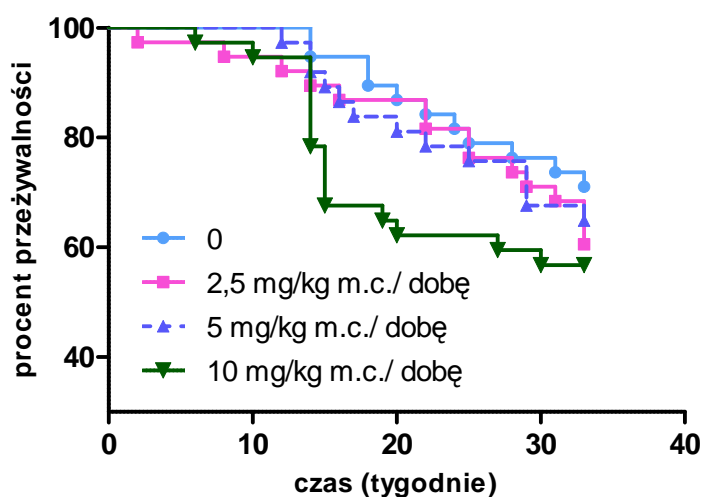


Ryc. 3 Glikemia zwierząt suplementowanych preparatem EO4

### Wnioski

Suplementacja preparatem EO4 w dawkach 2,5 oraz 5 mg/kg m.c./dobę istotnie poprawia przeżywalność zwierząt cukrzycowych pozostając bez wpływu na oznaczone podstawowe parametry opisujące stan i kondycję organizmu w nieleczonej cukrzycy.

### Preparat EL16



Ryc. 4 Krzywe przeżycia zwierząt z wyindukowaną cukrzycą suplementowanych preparatem EL16.

**Tablica 4** Średni czas przeżycia zwierząt cukrzycowych suplementowanych preparatem EL16.

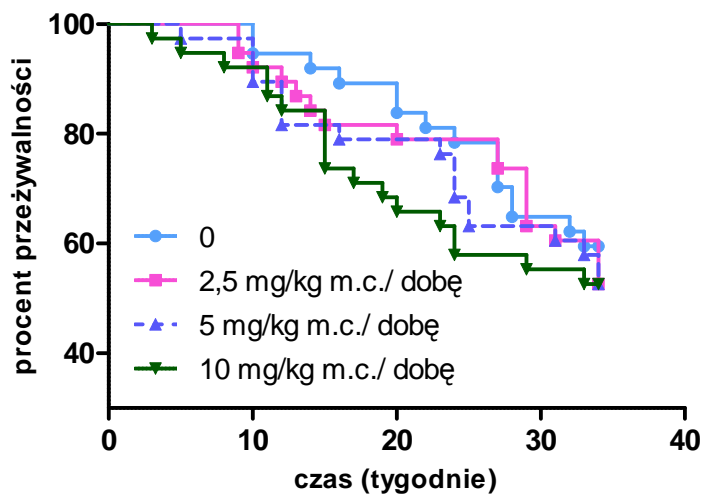
grupa eksperymentalna	średni czas przeżycia (95% przedział ufności) [tygodnie]
0 mg/kg m.c./d	29,9 (28,0 to 31,9)
2,5 mg/kg m.c./d	28,7 (26,1 to 31,4)
5 mg/kg m.c./d	28,8 (26,5 to 31,2)
10 mg/kg m.c./d	25,6 (22,6 to 28,7)

Porównanie krzywych testem Mantela-Coxa nie wykazało istotnych statystycznie różnic

### Wnioski

Preparat EL16 nie poprawia przeżywalności zwierząt z cukrzycą doświadczalną. Nie wykazano również wpływu preparatu na masę ciała zwierząt i ich glikemie.

### Preparat EZ14



**Ryc. 5** Krzywe przeżycia zwierząt z wyindukowaną cukrzycą suplementowanych preparatem EZ14.

**Tablica 5** Średni czas przeżycia zwierząt cukrzycowych suplementowanych preparatem EZ14.

grupa eksperymentalna	średni czas przeżycia (95% przedział ufności) [tygodnie]
0 mg/kg m.c./d	29,3 (26,9 to 31,8)
2,5 mg/kg m.c./d	28,5 (25,7 to 31,4)
5 mg/kg m.c./d	27,5 (24,4 to 30,5)
10 mg/kg m.c./d	25,8 (22,4 to 29,1)

Porównanie krzywych testem Mantela-Coxa nie wykazało istotnych statystycznie różnic

### **Wnioski**

Preparat EZ14 nie poprawia przeżywalności zwierząt z cukrzycą doświadczalną. Nie wykazano również wpływu preparatu na masę ciała zwierząt i ich glikemie.

### **Archiwizacja wyników**

Wprowadzenie zwierząt do eksperymentu oraz ich pobieranie wraz z datami było odnotowywane w dzienniku laboratoryjnym.

Cotygodniowe pomiary masy ciała zwierząt w formie wydruków zgromadzone zostały w segregatorze.

Wszystkie powyższe archiwa dostępne są w siedzibie Wykonawcy.