

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: „Behawioralna ocena pośredniej i bezpośredniej modulacji układu endokannabinoidowego w zaburzeniach pamięci u myszy, wynikających z dysfunkcji układu cholinergicznego. Analiza porównawcza z obecnie stosowaną farmakoterapią.”

2. Czas trwania projektu: 01.01.2021-01.01.2023

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): zaburzenia kognitywne, choroba Alzheimera, układ endokannabinoidowy, inhibitory rozkładu endokannabinoidów, skopolamina

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): A. badania podstawowe

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.

Choroba Alzheimera (AD) jest zaburzeniem kognitywnym polegającym na przyspieszonym wymieraniu neuronów cholinergicznym oraz spadku stężenia acetylocholin (ACh), neuroprzekaźnika, kluczowego w procesach poznawczych. Dotychczas nie wynaleziono skutecznej terapii AD, a dostępne leki tylko łagodzą objawy choroby.

Celowe jest więc poszukiwanie potencjalnych mechanizmów modulujących funkcje kognitywne, by w przyszłości opracować efektywne strategie farmakoterapii zaburzeń poznawczych. Duże nadzieje wiązane są z endogennym układem kannabinoidowym (ECS). ECS poprzez receptory kannabinoidowe (CB: CB1 i CB2); ich naturalne ligandy: endokannabinoidy (np. 2-arachidynoglicerol (2-AG); anandamid (AEA)), oraz enzymy uczestniczące w degradacji endokannabinoidów, jest zaangażowany w modulację funkcji kognitywnych.

Niewiele jest publikacji oceniających zaangażowanie receptorów CB2 lub enzymów odpowiedzialnych za rozkład endokannabinoidów: hydrolazy amidowej kwasów tłuszczowych (FAAH), rozkładającej AEA i lipazy monoacyloglicerolu (MAGL), rozkładającej 2-AG, w patomechanizmy zaburzeń kognitywnych.

Celem badań jest ocena wpływu ECS, zarówno **bezpośredniego** (modulacja funkcji receptorów CB2 za pomocą agonisty: JWH 133 jak i antagonisty: AM 630)) i **pośredniego** (udział inhibitorów enzymów rozkładających endokannabinoidy w mózgu: FAAH (PF 3845), MAGL (KML 29) oraz FAAH/MAGL (JZL 195)), w kontekście procesów uczenia się. Dodatkowo, otrzymane wyniki zostaną odniesione do efektów farmakologicznych riwastygminy - leku stosowanego obecnie w farmakoterapii zaburzeń kognitywnych w AD.

Otrzymane wyniki pozwolą na poszerzenie wiedzy na temat roli ECS w procesach tworzenia śladów pamięciowych związanych z dysfunkcją układu cholinergicznego, a także uzyskanie po raz pierwszy informacji na temat skutków łącznego stosowania nowych związków pośrednio i bezpośrednio modulujących funkcję ECS z dotychczas stosowanymi w farmakoterapii zaburzeń kognitywnych lekami, np. riwastygminą.

Planowane badania mają charakter badań podstawowych dotyczących ośrodkowego układu nerwowego PB3.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Dla przeprowadzenia doświadczeń zaplanowano użycie **540** samców myszy domowej, szczepu Swiss (54 grupy po 10 myszy).

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych: PubMed, Scopus, Web of Science (JCR).

Wykorzystano następujące słowa kluczowe: **Endocannabinoid system, cognitive impairments, Alzheimer's disease, inhibitors of endocannabinoids, scopolamine, rivastigmine**

Modulacja funkcji ECS stanowi obecnie nową, potencjalną możliwość w leczeniu wielu chorób OUN. Niewiele jednak wiadomo o roli ECS, pośredniej i/lub bezpośredniej, w zaburzeniach kognitywnych, a zwłaszcza tych zaburzeniach pamięci, które przebiegają z dysfunkcją układu cholinergicznego.

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

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzono, że dane dotyczące roli pośredniej i bezpośredniej ECS w formowaniu się szlaków pamięciowych nie są spójne, a prezentowane wyniki zależą od wyboru związku modulującego funkcję ECS, rodzaju testu doświadczalnego, czy warunków doświadczeń. Tak rozbieżne wyniki, skłaniają do podjęcia planowanych w projekcie badań.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

- Poszerzenie wiedzy teoretycznej w zakresie zaangażowania układu endokannabinoidowego w procesy kognitywne, zwłaszcza zaburzenia pamięci obejmujące nieprawidłowości w obrębie układu cholinergicznego
- Zastosowanie uzyskanej wiedzy, polegające na opracowaniu nowych strategii farmakoterapii chorób, w których dochodzi do zaburzeń kognitywnych (np. choroby Alzheimera), wykorzystujących związki modulujące funkcję pośrednio i bezpośrednio ECS.

Być może badane związki modulujące funkcje ECS będą mogły być stosowane samodzielnie, jak i w połączeniu z lekami cholinergicznymi np. rywastygminą w celu uzyskania większej skuteczności terapeutycznej zaburzeń kognitywnych.

ZASADA 3R

Wszystkie zaplanowane testy na myszach prowadzone będą zgodnie z zasadami 3R, których wykorzystanie zapewnia uzyskanie wiarygodnych i powtarzalnych wyników, co wyraża się za pośrednictwem poniższych działań:

1.UDOSKONALENIE (REFINEMENT)

W toku niniejszych badań planuje się wykorzystać jednopłciową grupę badawczą (samce), aby uniknąć rywalizacji samców o samicę oraz zmniejszyć ilości zmiennych (takich jak płeć) na możliwy rozrzut otrzymanych wyników.

Proponowana metodyka badawcza została wybrana tak, aby ograniczyć do minimum albo eliminować ból, cierpienie, czy stres myszy.

Podczas trwania doświadczenia zwierzęta będą przebywały pod opieką doświadczonego personelu, w ściśle określonych warunkach laboratoryjnych (temperatury, wilgotności, żywienia, dostępu do wody pitnej)

Podczas badań wykonawcy planują wzbogacać środowisko życia zwierząt (domki dla myszy i gryzaki w klatkach bytowych).

Pod uwagę brane jest również humanitarne zakończenie procedur w przypadku, gdy podawane substancje wywołałyby objawy niespecyficzne u zwierząt takie jak: osowiałość, zaburzenia pobierania pokarmu, spadek masy ciała, zaburzenia oddychania i drgawki.

Wystąpienie powyższych objawów stanowi sygnał do humanitarnego zakończenia procedur i ograniczenia cierpienia zwierzęcia poprzez uśmiercenie w atmosferze dwutlenku węgla.

2. OGRANICZENIE (REDUCTION)

Dla przeprowadzenia doświadczeń zaplanowano użycie grup złożonych z 10 osobników. Jest to najmniejsza liczba zwierząt w grupie, która zapewnia powtarzalność pomiarów, pozwala na uzyskanie wiarygodnych, dających się opracować statystycznie wyników oraz minimalizuje zmienność pozwalając na ograniczenie ilości wykorzystywanych zwierząt do niezbędnego minimum. Liczba wykorzystanych zwierząt została ograniczona do poziomu niezbędnego do osiągnięcia zamierzonych efektów, czyli do oceny wpływu związków fenolowych lub terpenów na zachowania depresyjne. Zwierzęta będą testowane tylko raz. Zachodzi też konieczność zastosowania grup kontrolnych doświadczenia i konieczność, jednak w celu ograniczenia liczby zwierząt, zgodnie z zasadami 3R, te grupy kontrolne, które były badane w poprzednich doświadczeniach, nie będą po raz kolejny powtarzane.

3. ZASTĄPIENIE (REPLACEMENT)

Prowadzone badania dotyczą wpływu związków na działanie OUN i niemożliwe jest wykorzystanie kultur tkankowych, hodowli komórkowych lub metod instrumentalnych i zastąpienie nimi zwierząt doświadczalnych, aby otrzymać wiarygodne i spójne wyniki. Wykorzystane do doświadczeń myszy są wiarygodnym modelem doświadczalnym w testach z użyciem środków działających na OUN. Dlatego w celu oceny zaangażowania układu endokannabinoidowego w powstawanie śladów pamięciowych nie można zastosować innej metody, bez udziału zwierząt. Zastosowanie zwierząt w planowanych doświadczeniach pozwoli na poznanie działania badanych substancji na cały organizm i będące podstawą jego funkcjonowania tkanki, a także wzajemne interakcje między nimi. Jest to niemożliwe przy zastosowaniu procedur in vitro, m.in. hodowli tkankowych.

Zwierzęta przebywać będą w odpowiednich warunkach, zgodnych z wytycznymi dla tego typu doświadczeń, a stosowane procedury i czynności wykonywane będą w zgodzie z najlepszymi standardami postępowania, mającymi na celu dobrostan zwierząt, przez osoby wykwalifikowane, posiadające konieczne przeszkolenie i wieloletni staż pracy ze zwierzętami laboratoryjnymi.

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.