

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Badania profilu ekspresji neuropeptydów w mózgu szczura w warunkach niedokrwienia i reperfuzji.

2. Czas trwania projektu : 3 lata

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): udar niedokrwienno, szczur, neuropeptydy, neuroregeneracja

4. Cel projektu (art. 3 ustawy)– Badania podstawowe

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.

Według Światowej Organizacji Zdrowia z 2016 roku, udar mózgu pozostaje drugą najczęstszą przyczyną zgonów na świecie. Co czwarty przypadek udaru mózgu kończy się zgonem, a jakość życia osób po udarze mózgu ulega znacznemu pogorszeniu, ponieważ ponad połowa z nich pozostaje z niepełnosprawnością. Około 80% udarów są to udary niedokrwienne, z czego 70 % jest skutkiem zamknięcia tętnicy środkowej mózgu lub którejś z jej odgałęzień materiałem zatorowym. Niestety pomimo stałego postępu wiedzy patofizjologia udaru niedokrwienno nie została całkowicie poznana co wymaga prowadzenia dalszych badań.

Podstawowym celem projektu jest ocena ekspresji wybranych neuropeptydów po niedokrwieniu i reperfuzji mózgu dorosłego szczura oraz ich znaczenia dla procesu neurogenezy. Badania będą prowadzone na szczurach, które poddane zostaną zabiegowi wymuszonego niedokrwienia jednej z półkul mózgu poprzez okluzję tętnicy środkowej. W różnym czasie po przywróceniu krążenia (do 7 dni) szczury zostaną poddane testowi behawioralnemu, a następnie zostaną zdekapitowane po czym zostaną im wypreparowane mózgowia. Z każdej grupy badawczej część mózgów zostanie następnie przygotowana do barwień immunohistochemicznych, natomiast z pozostałych mózgów zostanie pobrany szereg struktur, w tym: podwzgórze, hipokamp, prążkowie oraz ciało migdałowate celem przeprowadzenia reakcji PCR. Zostanie przeprowadzona ocena ekspresji genów neuropeptydu S (NPS), receptora NPSR, nestafyny-1, kisspeptyny-1, speksyny, feniksyny i neuropeptydu Y (NPY). Ekspresja i lokalizacja białka w/w peptydów oraz markerów neurogenezy takich jak Sox2 i DCX zostanie zbadana

metodą immunohistochemiczną przy zastosowaniu I-rzędowych przeciwciał specyficznych dla określonych markerów oraz przeciwciał II-rzędowych skoniungowanych z fluorochromami, bądź z alkaliczną fosfatazą. Analiza statystyczna uzyskanych wyników zostanie przeprowadzona z zastosowaniem oprogramowania Statistica (Systat Software).

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

80 szczurów szczepu Sprague-Dawley (gatunek szczur wędrowny – *Rattus norvegicus*)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych PUBMED, ScienceDirect i Web of Science (JCR) wykorzystując słowa kluczowe: cerebral ischemia, stroke, neurodegeneration, neuroregeneration, neuropeptides.

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzam istotne braki w wiedzy odnośnie mechanizmów odpowiedzialnych za zmiany w mózgu spowodowane czasowym niedokrwieniem różnych rejonów mózgowia. Szczególnie brak jest danych dotyczących udziału nowo poznanych neuropeptydów takich jak feniksyna, nesfatyna 1 czy relaksyna 3 w procesach degeneracyjnych/regeneracyjnych indukowanych niedokrwieniem mózgu. Dane uzyskane w ramach proponowanego projektu pogłębią wiedzę na temat mechanizmów endogennej neurogenezy zachodzącej w różnych obszarach mózgu uszkodzonych w wyniku czasowego niedokrwienia i następującej po nim reperfuzji. Mogą się przyczynić do wdrożenia alternatywnych terapii schorzeń neurologicznych spowodowanych udarem mózgu.

Zastąpienie: Badania zaplanowane w ramach przedstawionych procedur nie pozwalają na ich zastąpienia inną, niewymagającą użycia zwierząt metodyką. Planowany przez nas model zwierzęcy (udar poprzez okluzję tętnicy środkowej mózgu) jest najczęściej używanym modelem udarowym. Cechuje go mniejsza inwazyjność niż modeli opartych na kraniotomii dzięki czemu nie dochodzi do mechanicznego uszkodzenia struktur mózgowia.

Ograniczenie: Chcąc zastosować tę zasadę ustalono najmniejszą możliwą liczbę zwierząt. Planowane badania zostaną wykonane na 80 szczurach. Liczebność ta jest niezbędna do uzyskania znamienności

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

statystycznej otrzymanych wyników badań. Użycie mniejszej ilości zwierząt powodowałoby ryzyko konieczności powtórzenia eksperymentu.

Udoskonalenie: Zwierzęta będą pod stałym nadzorem lekarza weterynarii, w razie potrzeby zostanie zastosowane wczesne, humanitarne zakończenie procedury opisane w pkt 9 wniosku. Podczas eksperymentu zostanie zastosowany pełny profil przeciwbólowy.

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.