

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Wpływ zahamowania działania transportera dopaminy na poprawę funkcji poznawczych u młodych oraz starzejących się zwierząt

2. Czas trwania projektu: 01.04.2019 – 25.11.2020

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): transporter dopaminy, elastyczność poznawcza, uczenie się, starzenie się, długotrwałe wzmocnienie synaptyczne

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.

Dopamina jest wiązana z procesami uczenia się, pamięci i uwagi. Zaburzenia w równowadze dopaminergicznej są związane z objawami obserwowanymi w wielu chorobach (choroba Parkinsona, schizofrenia, depresja, ADHD) oraz zachodzą z wiekiem, skutkując pogorszeniem funkcji poznawczych u osób starszych. Główny regulator neurotransmisji dopaminergicznej - transporter dopaminy (DAT), odgrywa ważną rolę w kontroli wpływu DA na procesy poznawcze. Leki celowane w DAT, np. metylofenidat lub modafinil, powodują poprawę funkcji poznawczych u chorych lub starszych. Jednakże specyficzność do DAT większości leków jest ograniczona, ponieważ blokują również transportery noradrenaliny i serotoniny, powodując efekty uboczne, np. wzmożoną impulsywność, agresję. Celem projektu jest ocena wpływu zahamowania działania DAT, poprzez zastosowanie inhibitora CE-158, o znacznie wyższej specyficzności do DAT, na procesy poznawcze u zwierząt młodych oraz starzejących się.

Zwierzętom młodym CE-158 będziemy podawać przez 3 miesiące, zwierzętom starzejącym się - tuż przed uczeniem się nowego zadania. Ocenimy ogólny stan zwierząt, zastosujemy testy behawioralne oraz zbadamy komórkowe wskaźniki uczenia się i pamięci - długotrwałe wzmocnienie synaptyczne, zmiany morfologiczne

dendrytów oraz liczbę powstających synaps.

W doświadczeniach wymagane będzie poddanie zwierząt operacjom implantacji elektrod używanych do rejestracji elektrofizjologicznych. Procedury te związane są ze stresem i dyskomfortem, który będziemy minimalizować przez podanie środków przeciwbólowych w trakcie i po operacji, głęboką narkozę podczas zabiegu oraz podawanie leków zapobiegających powikłaniom pooperacyjnym. Jeżeli wystąpią niepokojące objawy (utrata masy ciała, zaburzenia rytmu oddechowego lub widoczne objawy dyskomfortu) procedury zostaną humanitarnie zakończone.

Rezultatem projektu może być próba stworzenia nowych leków, które pomogą w leczeniu chorób wynikających z zaburzenia równowagi dopaminergicznej oraz w poprawie funkcjonowania poznawczego osób starszych.

## 6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Szczury, Wistar, młode (40 zwierząt)

Szczury, Wistar, starzejące się (30 zwierząt)

Myszy, szczep C57BL/6 (48 zwierząt)

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA<sup>1</sup>

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziliśmy istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: PUBMED. Wykorzystaliśmy słowa kluczowe:

Dopamine, dopamine transporter (DAT), modafinil, IntelliCages, Attentional-Set-Shifting-Task, open field, water maze, elevated plus maze, Vogel test, ADHD, schizophrenia, aging, LTP, dendritic spines, synapses

**Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzamy że:**

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że:

Transporter dopaminy, będący głównym czynnikiem odpowiedzialnym za regulację poziomu dopaminy w mózgu, może odgrywać rolę w procesach poznawczych takich jak procesy uwagi i elastyczność poznawcza. Leki celowane w DAT, takie jak metylofenidat czy modafinil powodują poprawę funkcji poznawczych u osób starszych lub chorych. Jednakże specyficzność do DAT większości inhibitorów DAT dostępnych dotychczas jest znacznie ograniczona, ponieważ blokują one również transportery noradrenaliny i serotoniny oraz mogą powodować efekty uboczne u osób zdrowych, takie jak m.in. wzmożona impulsywność lub agresja.

B. Brak jest danych dotyczących:

wpływu wysoce specyficznego dla DAT inhibitora CE-158 na poprawę procesów poznawczych, na zjawisko długotrwałego wzmocnienia synaptycznego (LTP), które jest komórkowym modelem formowania się pamięci, czy też na liczbę/gęstość synaps i kolców dendrytycznych, gdyż jest to zupełnie nowo-zsyntetyzowany związek. Wiedza na temat wpływu zmian w poziomie DAT na złożone procesy poznawcze, takie jak uczenie się i pamięć oraz na towarzyszące im zmiany w gęstości synaps i kolców dendrytycznych (a zatem - powstawanie lub

<sup>1</sup> Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

eliminację tychże) również jest bardzo skąpa, gdyż stosowanie inhibitorów o niższej specyficzności wiąże się z występowaniem efektów ubocznych, a praca na zwierzętach transgenicznym pozbawionych transportera dopaminy wiąże się z kolei z występowaniem mechanizmów kompensacyjnych.

**Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:**

A/ Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku:

zrozumienia roli transportera dopaminy i układu dopaminergicznego w procesach poznawczych, takich jak uczenie się, pamięć, elastyczność poznawcza, procesy uwagi, oraz w funkcjach społecznych.

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na:

próbie opracowania selektywnych leków, o minimalnym zakresie skutków niepożądanych, wspomagających funkcjonowanie poznawcze u pacjentów cierpiących z powodu chorób wynikających z zaburzenia równowagi dopaminergicznej, a także osób starszych.

Projekt ma charakter badań podstawowych dotyczących roli układu dopaminergicznego w procesach poznawczych i zakłada użycie żywych zwierząt. Rozważano według zasady „REPLACEMENT” zastąpienie badań na szczurzym i mysim modelu *in vivo* badaniami na kręgowcach niższych lub badaniami *in vitro*. Jednak ze względu na specyfikę i skomplikowany model badawczy związany z funkcjonowaniem poznawczym nie ma możliwości wykorzystania do doświadczeń kręgowców niższych. Pomimo usilnych starań i prac nad stworzeniem uniwersalnego modelu *in vitro* do badania procesów neurobiologicznych nie uzyskano dotychczas modelu, który w pełni obrazowałby dynamiczne zmiany jakie zachodzą w mózgu w warunkach *in vivo*.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na rozwinięcie poznawcze istniejącej wiedzy o roli układu dopaminergicznego, a w szczególności transportera dopaminy, w procesach poznawczych. Badania roli transportera dopaminy mogą mieć istotne znaczenie nie tylko dla obszaru nauk podstawowych, ale także nauk medycznych i farmakologii. Wyniki zaprezentowanego projektu mogą wnieść cenny wkład w zrozumienie podstaw chorób i zaburzeń wynikających z zaburzenia równowagi dopaminergicznej, a ich efektem może być próba stworzenia nowej generacji selektywnych leków - inhibitorów DAT, które pomogą w leczeniu pacjentów cierpiących na takie choroby oraz w poprawie funkcjonowania poznawczego osób starszych.

Według zasady „REDUCTION” zaprojektowano możliwie najmniej liczne grupy badawcze biorąc pod uwagę ograniczenia metodologiczne oraz zastosowanie metod statystycznych.

Według zasady „REFINEMENT” będzie zminimalizowany dystres i ból u zwierząt doświadczalnych poprzez podawanie przed i po operacji środków przeciwbólowych. Wszystkie procedury i czynności eksperymentalne są tak zaplanowane, aby przysparzały zwierzętom możliwie jak najmniej cierpień. Do takich standardowych działań należy zastosowanie narkozy za pomocą izofluranu poprzedzone wstępną sedacją przy użyciu leku przeciwbólowego. Jednocześnie, podczas operacji temperatura zwierzęcia będzie monitorowana i utrzymywana na stałym poziomie przy pomocy koca termicznego, zwierzęta będą nawadniane. Kiedy będzie to możliwe, zastosowane będzie znieczulenie miejscowe (lidokaina) w miejscu nacięcia skóry. Po zakończeniu operacji zwierzę otrzyma zastrzyk długo działającego leku przeciwbólowego. Do momentu wybudzenia, zwierzę pozostanie pod stałą kontrolą eksperymentatora, w dogrzewanej klatce, a lek przeciwbólowy oraz antybiotyk o szerokim spektrum działania będzie podawany jeszcze przez kilka dni po zabiegu.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną<sup>2</sup>

- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy

X NIE

---

<sup>2</sup> Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.