

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1.Tytuł projektu: Badania w zakresie epileptogenezy – stworzenie i walidacja zwierzęcego modelu padaczki pourazowej

2.Czas trwania projektu: 1.06.2020 – 31.05.2023

3.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): heparyna, padaczka, drgawki, modele zwierzęce.

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.

Padaczka (epilepsja) jest chorobą, zaburzeniem czynności mózgu charakteryzującym się trwałą predyspozycją do powstawania napadów drgawek wywołanych niekontrolowanymi wyładowaniami komórek nerwowych w mózgu (1). Jednym z częściej występujących zespołów padaczkowych jest padaczka pourazowa (ang. *post-traumatic epilepsy* – PTE). PTE jest zjawiskiem wtórnym do uszkodzeń mózgu, które powstają w wyniku urazu. Nadal nie znany jest mechanizm, na którego zasadzie uszkodzenie tkanki mózgowej prowadzi do nawracających napadów padaczkowych (2). Jednym z rodzajów PTE jest padaczka wywołana udarem krwotocznym mózgu. W badaniach prowadzonych na 265 pacjentach po przebytych udarach krwotocznym stwierdzono, że drgawki wystąpiły u 28 badanych (10,6 %). We wszystkich przypadkach Jedynym czynnikiem ryzyka wystąpienia drgawek był krwotok korowy (3).

Obecnie nie ma dobrego zwierzęcego modelu urazu krwotocznego skutkującego powstaniem padaczki. Celem pracy jest sprawdzenie czy domózgowe (ang. *intracerebroventricular* – i.c.v.) podanie heparyny u myszy doświadczalnych, może być czynnikiem wywołującym zespół padaczki pourazowej. Wcześniejsze pilotażowe badania własne oraz badanie znane z piśmiennictwa (4) wskazują, że heparyna podana domózgowo wywołuje drgawki. Oczekiwane jest obniżenie progu pobudliwości drgawkowej, które będzie potwierdzeniem wystąpienia procesu epileptogenezy wskutek domózgowego podania heparyny. Stwierdzenie obniżenia progu pobudliwości drgawkowej (procedura 2, czynności 5 i 6; procedura 3, czynności 5 i 6) i/lub wystąpienie spontanicznych napadów drgawek w okresie do 4 tygodni po podaniu heparyny (procedura 2, czynność 4; procedura 3 czynność 4) będzie świadczyć o uzyskaniu modelu, który może być użyty w celu poszukiwania mechanizmu rozwoju procesu epileptogenezy po urazie krwotocznym oraz w celu testowania substancji, które mogą zapobiec rozwojowi procesu epileptogenezy.

Projekt ma charakter badań podstawowych nad układem nerwowym - PB3.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Myszy szczepu Albino Swiss, samce (dorosłe osobniki) o masie ciała: 20-22 gramy na początku doświadczenia.

Liczba: 210 osobników

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

REPLACEMENT - zastąpienie doświadczeń na zwierzętach metodami *in vitro* (hodowle komórkowe, tkankowe), zastąpienie zwierzętami o niższym stopniu rozwoju ewolucyjnego;

Ze względu na zaplanowane doświadczenie niemożliwe jest stworzenie i walidacja zwierzęcego modelu padaczki pourazowej za pomocą techniki *in vitro*. Niewskazane jest także zastąpienie myszy szczepu Albino Swiss zwierzętami o niższym stopniu rozwoju ewolucyjnego, z tego względu, że doświadczenia

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

te nie dostarczą wyników tak wiarygodnych jak te, które przeprowadzone są na myszach i które będzie można odnieść do problemów klinicznych obserwowanych u ludzi. Badania te mogą przyczynić się do uzyskaniu zwierzęcego modelu padaczki, który będzie mógł być użyty w celu poszukiwania mechanizmu rozwoju procesu epileptogenezy po urazie krwotocznym oraz testowania substancji, które mogą zapobiec rozwojowi procesu epileptogenezy.

REDUCTION - *zmniejszenie liczby zwierząt poprzez lepsze wykorzystanie metod statystycznych.*

W badaniach zaplanowano najmniejszą liczbę zwierząt (10 zwierząt w grupie) pozwalającą na uzyskanie wiarygodnych wyników, stwarzających możliwość analizy statystycznej. Jest to liczba zwierząt w grupie, ustalona zgodnie z wymogami stawianymi przez zasadę 3R, która jednocześnie pozwala na uzyskanie wiarygodnych, powtarzalnych, dających się opracować statystycznie wyników (analiza wariancji jedno-i dwuskładnikowa ANOVA oraz testu post-hoc Tukey'a).

Minimalizacja liczby zwierząt w grupie doświadczalnej była możliwa również dzięki ograniczeniu zmienności wśród zwierząt poprzez stały mikroklimat w Zwierzętarni podczas doświadczenia, jednorodność wieku, płci oraz masy ciała wśród wszystkich osobników. Dodatkowo środowisko, w którym będą przebywały myszy, zostanie wzbogacone o tunele oraz klocki drewniane w celu poprawy dobrostanu zwierząt.

REFINEMENT – *zmiana procedury eksperymentalnej na przysparzającą zwierzętom mniej cierpień*
Zaplanowane modele eksperymentalne ograniczają cierpienie zwierząt. W przypadku wystąpienia w trakcie doświadczenia poważnych objawów chorobowych powodujących znaczny dyskomfort u zwierząt, podjęte będą zabiegi zgodnie z zasadami wcześniejszego, humanitarnego zakończenia procedury. Zwierzęta zostaną uśmiercone przy użyciu CO₂.

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.