

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Wpływ wielokrotnego podania mefedronu na poziom metabolitów szlaku kynureninowego u szczurów – badania wstępne

2. Czas trwania projektu: od 1.06.2020 r. do 31.05.2023 r.

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): mefedron, tryptofan, kwas kynureninowy, szlak kynureninowy, szczury.

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.

Mefedron jest przedstawicielem popularnej grupy syntetycznych katynonów. Substancja ta pod względem chemicznym oraz toksykologicznym zbliżona jest do środków o działaniu pobudzającym i euforyzującym, takich jak amfetamina, MDMA (*ecstasy*) i kokaina. Mefedron nadużywany jest najczęściej przez osoby młode, a jego wpływ na ośrodkowy układ nerwowy (OUN) nie został jeszcze w pełni poznany. Z dostępnego piśmiennictwa wiadomo, że mefedron nasila uwalnianie dopaminy i serotoniny, blokuje ich wychwyt zwrotny oraz oddziałuje z transporterami błon plazmatycznych dla tych neuroprzekaźników. Ponieważ ponad 95% tryptofanu jest przekształcane w szlaku kynureninowym, a tylko niewielka ilość tego aminokwasu jest przekształcana w serotoninę, celem naszego doświadczenia jest przebadanie

wpływu wielokrotnego podania mefedronu na poziom metabolitów szlaku kynureninowego. Szlak kynureninowy odgrywa istotną rolę w patogenezie wielu chorób neurodegeneracyjnych i psychicznych. Obecnie prowadzone są badania nad modyfikacjami tego szlaku pod kątem nowych możliwości w terapii schorzeń OUN, w tym uzależnień.

Mefedron w dawce 30 mg/kg będzie podawany dootrzewnowo (i.p.) szczurom przez 10 kolejnych dni, jeden raz dziennie o ustalonej porze. Następnie 2 h, 24 h, 7 i 14 dni po ostatnim podaniu substancji zostaną pobrane mózgi zwierząt do dalszych badań biochemicznych, w których zostanie poddany analizie poziom metabolitów szlaku kynureninowego (tryptofan, kynurenina, kwas kynureninowy, 3-hydroksykynurenina). Zaplanowane cztery przedziały czasowe, w których zwierzęta zostaną zdekapitowane pozwolą na ocenę czy mefedron wpływa na szlak kynureninowy oraz czy te efekty są długotrwałe.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniu zostaną wykorzystane szczury samce szczepu Wistar, dorosłe, młode osobniki w 40 dniu życia – 80 zwierząt.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

Przygotowując projekt badawczy sprawdzona została istniejąca wiedza w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych PubMed, Web of Science (JCR) oraz Science Direct. Wykorzystano następujące słowa kluczowe: mephedrone, tryptophan, kynurenic acid, kynurenine pathway, rats.

Przeglądając dostępną literaturę stwierdziłam, że zgromadzone dane literaturowe uzasadniają zaplanowane doświadczenie. Pozwoli ono odpowiedzieć na pytanie czy wielokrotne podanie mefedronu będzie miało wpływ na poziom metabolitów szlaku kynureninowego (tryptofan, kynurenina, kwas kynureninowy, 3-hydroksykynurenina) oraz czy ten efekt będzie długotrwały. Uzyskane wyniki będą stanowiły podstawę przy planowaniu dalszych badań.

Przygotowując projekt badawczy zastosowałam zasadę 3R:

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

Ze względu na zaplanowane doświadczenie oraz pobieranie struktur mózgowych niemożliwe jest zbadanie wpływu wielokrotnego podania mefedronu na poziom metabolitów szlaku kynureninowego za pomocą techniki in vitro. Niewskazane jest także zastąpienie szczurów wędrownych zwierzętami o niższym stopniu rozwoju ewolucyjnego, z tego względu, że doświadczenia te nie dostarczą wyników tak wiarygodnych jak te, które przeprowadzone są na szczurach i które będzie można odnieść do problemów klinicznych obserwowanych u ludzi. Niniejsze badania mogą przyczynić się do zweryfikowania wpływu mefedronu na szlak kynureninowy. Mogą być również bardzo cenne dla wielu dziedzin nauk medycznych np. toksykologii, farmakologii czy ochrony zdrowia.

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 szczury, 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 objawów niepożądanych w trakcie doświadczenia (duszności, drgawki, niezdolność

ruchowa) podjęte będą zabiegi zgodnie z zasadami wcześniejszego, humanitarnego zakończenia procedury. W niniejszym projekcie nie ma możliwości uniknięcia wielokrotnych iniekcji. Pobranie struktur mózgowych w wyniku dekapitacji znacznie poszerzy wiedzę na temat patologicznych zmian zachodzących w mózgu, które są konsekwencją wielokrotnego stosowania mefedronu, a także pozwoli odpowiedzieć na pytanie czy mefedron wpływa na szlak kynureninowy.

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. Zatem zapewnione będą jak najlepsze warunki życia zwierząt, jak również ich zgodne z wymogami, uśmiercanie.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną

TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy

TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy

☒ NIE