

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Wpływ kwasu cinnabarynowego na pobudliwość drgawkową u myszy.

2. Czas trwania projektu: 1.08.2020 – 31.05.2023

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): kwas cinnabarynowy, mGlu4, padaczka, drgawki.

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.

Kynureniowy szlak przemian tryptofanu prowadzi do powstania w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN) dobrze poznanych neuroaktywnych metabolitów jak kwas chinolinowy i kwas kynureninowy. Kwas cinnabarynowy powstaje na szlaku kynureninowym w wyniku przemiany z kwasu 3-hydroksyantranilowego. Jego znaczenie w organizmie jest praktycznie nieznane. Obecne badania potwierdzają, że kwas cinnabarynowy posiada właściwości neuromodulujące poprzez wpływ na metabotropowy receptor glutaminowy 4 (mGlu4) (1). Receptor mGlu4 należy do receptorów sprzężonych z białkami Gi/Go (GPCR), które są zlokalizowane presynaptycznie i hamują uwalnianie neuroprzekaźników (2). Ostatnie badania naukowe sugerują zaangażowanie receptorów mGlu4 w poziom aktywności drgawkowej. W badaniach prowadzonych na skrawkach hipokampa pochodzących od pacjentów z padaczką skroniową (ang. temporal lobe epilepsy – TLE) zaobserwowano istotną up-regulację mGlu4 w badanej tkance (3).

Kwas cinnabarynowy jest słabym ortosterycznym agonistą mGlu4 bez powinowactwa do innych receptorów mGlu. Ponadto jest agonistą receptora węglowodorów aromatycznych (ang. aryl hydrocarbon receptor – AhR), który występuje głównie w tkankach obwodowych. Celem pracy jest sprawdzenie wpływu kwasu cinnabarynowego na pobudliwość drgawkową u myszy doświadczalnych. Oczekiwane jest obniżenie aktywności drgawkowej u zwierząt w wyniku dootrzewnowego (i.p.) podania kwasu cinnabarynowego w trzech modelach padaczki: elektrycznym – minimal electroshock seizure (mES) (procedura 1), teście pentetrazolowym (PTZ) (procedura 2) oraz teście pilokarpinowym (procedura 3). Dodatkowo zwierzęta przebadane zostaną w trzech testach behawioralnych: teście komina (ang. chimney test) (procedura 4), teście rozpoznawania nowego obiektu (ang. novel object recognition – NOR) (procedura 5) oraz teście aktywności lokomotorycznej (procedura 6).

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: 300 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 ocena właściwości przeciwdrgawkowych kwasu cinnabarynowego za pomocą techniki in vitro. Niewskazane jest także zastąpienie myszy szczepu Albino Swiss zwierzętami o niższym stopniu rozwoju ewolucyjnego, z tego względu, że doświadczenia te nie dostarczą wyników tak wiarygodnych jak te, które przeprowadzone są na myszach i które będzie można odnieść do problemów klinicznych obserwowanych u ludzi. W przypadku potwierdzenia

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

przeciwdrgawkowych właściwości kwasu cinnabarynowego badania te mogą przyczynić się do jego wykorzystania jako potencjalnego leku przeciwpadaczkowego.

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.

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 po zakończeniu badań możliwe będzie przekazanie tkanek i narządów do innych badań lub ich zmagazynowania w celu późniejszego wykorzystania.

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 lub poprzez dekapitację w przypadku zwierząt, od których pobrany zostanie materiał biologiczny do dalszych badań biochemicznych.

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.