

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu . "Wpływ przewlekłego podawania pregabaliny na jej aktywność przeciwdrgawkową w modelu maksymalnego wstrząsu elektrycznego, objawy niepożądane oraz poziom ekspresji wybranych genów kodujących białka regulujące działanie kanałów jonowych w mózgu u myszy."

2. Czas trwania projektu1.10.2020-30.09.2025 r.....

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): pregabalina, leki przeciwpadaczkowe, test maksymalnego wstrząsu elektrycznego, padaczka, ekspresja genów

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.

Celem jest ocena wpływu przewlekłego podawania pregabaliny (PGB) na jej aktywność przeciwdrgawkową w modelu maksymalnego wstrząsu elektrycznego (MES), objawy niepożądane oraz poziom ekspresji wybranych genów kodujących białka regulujące działanie kanałów jonowych w mózgu u myszy. MES jest odpowiednikiem uogólnionych napadów toniczno-klonicznych u ludzi.

Leczenie padaczki jest terapią długoterminową. Zatem istotne jest poznanie możliwych konsekwencji przewlekłego przyjmowania LPP, ich wpływu na funkcję OUN, przebieg choroby, własny metabolizm, a także potencjalnych interakcji z innymi lekami i substancjami. Niektóre LPP wpływają na swój własny metabolizm, co może skutkować nasileniem efektu terapeutycznego, wystąpieniem działania

toksycznego lub tolerancji. Przedłużona ekspozycja na ksenobiotyk wywołuje w żywym organizmie zmiany adaptacyjne w obrębie miejsca działania substancji czynnej (zmiana gęstości i wrażliwości receptorów, modyfikacja produkcji lub eliminacji neuroprzekazników). W trakcie przewlekłego podawania LPP może dochodzić do nasilenia aktywności przeciwdrgawkowej, np. VPA i LTG, lub rozwoju tolerancji na efekt ochronny, np. PB, OXC (dane niepublikowane autora). Jednym z możliwych mechanizmów są zjawiska epigenetyczne. Przedłużona ekspozycja tkanki nerwowej na LPP może zmieniać ekspresję genów uczestniczących w regulacji procesów pobudzenia i hamowania neuronów

W przebiegu doświadczenia planujemy wyznaczyć dawki ED₅₀ (50% dawki efektywnej) PGB w teście MES po jednorazowym i przewlekłym podawaniu, co pozwoli na porównanie efektu przeciwdrgawkowego w zależności od czasu trwania terapii. Zbadane zostaną również potencjalne efekty neurotoksyczne PGB w zakresie koordynacji ruchowej (oceniane w teście komina) oraz wpływ na pamięć długotrwałą (test biernego unikania). Ponadto, ocenione zostaną stężenia PGB w osoczu i homogenatach mózgów myszy, aby oszacować możliwe zmiany metabolizmu leku w trakcie przewlekłego stosowania. Wreszcie, w pobranych tkankach zostanie przeprowadzona ocena ekspresji wybranych genów białek regulujących działanie kanałów jonowych u myszy.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Gatunek mysz domowa, samce, stado Swiss. Liczba zwierząt 760

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

W procesie przygotowywania projektu badawczego sprawdzona została wiedza w zakresie objętym wnioskiem badawczym.

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

W bazach danych PubMed oraz Web of Science (JCR) przeszukano dane po wpisaniu następujących słów kluczowych:

pregabalin, antiepileptic drugs, maximal electroshock seizure, epilepsy, gene expression

Na podstawie przeprowadzonego przeglądu stwierdzono, że:

1. Brakuje w literaturze danych na temat aktywności przeciwdrgawkowej pregabaliny w teście MES u myszy w modelu przewlekłego stosowania.
2. Brakuje w literaturze informacji dotyczących wpływu przewlekłego stosowania pregabaliny na pamięć długoterminową i motorykę zwierząt.
3. W dostępnych danych nie ma informacji dotyczących dawki toksycznej oraz wskaźnika ochronnego pregabaliny u myszy przy przewlekłym jej stosowaniu.
4. Brakuje w literaturze danych dotyczących wpływu pregabaliny na poziom ekspresji wybranych genów kodujących białka regulujące działanie kanałów jonowych u myszy.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

- A. Określenie aktywności przeciwdrgawkowej pregabaliny przy przewlekłym jej podawaniu.
- B. Sprawdzenie czy przewlekłe stosowanie pregabaliny powoduje działania niepożądane w zakresie pamięci długotrwałej i motoryki u zwierząt.
- C. Wyznaczenie dawek toksycznych i wskaźnika ochronnego dla pregabaliny podawanej przewlekle.
- D. Stwierdzenie ewentualnych zależności farmakokinetycznych warunkujących zmiany efektywności pregabaliny w różnych protokołach podania leku.
- E. Ocenę wpływu pregabaliny na poziom ekspresji wybranych genów kodujących białka regulujące działanie kanałów jonowych w mózgu u myszy, co może być punktem wyjścia do Wyniki naszych badań dostarczą nowych informacji dotyczących roli mechanizmów epigenetycznych w leczeniu padaczki. Może to przyczynić się do stworzenia nowych terapii przeciwpadaczkowych lub zapobiegających rozwojowi padaczki

Zasady zastąpienia:

Badań behawioralnych nie można przeprowadzić w warunkach in vitro. W badaniach umożliwiających ocenę działania leków na ośrodkowy układ nerwowy oraz ich wpływu na procesy drgawkowe,

kognitywne i motoryczne, zastąpienie zwierząt doświadczalnych innym materiałem doświadczalnym jest niemożliwe. Gryzonie są najczęściej wykorzystywane w badaniach behawioralnych, a ekstrapolacja wyników doświadczalnych z badań na zwierzętach z niższego szczebla drabiny rozwoju jest praktycznie niemożliwa. U ludzi nie ma możliwości oceny zależności farmakokinetycznych warunkujących zmiany efektywności w różnych protokołach podania leku.

Zasady ograniczenia:

Grupy doświadczalne będą liczyć po 10 myszy – to najmniejsza liczba zwierząt w grupie, pozwalająca na uzyskanie wiarygodnych statystycznie wyników w poszczególnych testach w przewlekłym protokole podawania leku.

Planowana ilość zwierząt uległa ograniczeniu w toku prowadzonych doświadczeń poprzez:

1. Redukcję grupy kontrolnej w teście komina i biernego unikania – zrezygnowano z grup kontrolnych, którym należałoby podać 1% roztwór Tweenu w protokole dawkowania 1 x 1, aby porównać grupy kontrolne między sobą w różnych protokołach 1 x 1 i 14 x 2. Miałoby to na celu sprawdzenie czy wielokrotne iniekcje z placebo nie wpływają na zaburzenia koordynacji ruchowej lub motoryki u zwierząt. Takie doświadczenie było przeprowadzone przez nasz zespół w poprzednich badaniach, gdzie nie zaobserwowano działań ubocznych w tym zakresie po wielokrotnych iniekcjach.
2. Test komina (wpływ PGB na koordynację ruchową) oraz pobranie tkanek w celu izolacji materiału genetycznego przeznaczonego do badania poziomu ekspresji wybranych genów zostaną przeprowadzone na tych samych osobnikach (w grupach, w których dawki PGB stosowane w teście komina korespondują z tymi stosowanymi do badania poziomu ekspresji wybranych genów).

Zasady udoskonalenia:

- -zapewnienie najlepszych możliwych warunków zoohigienicznych w OMD,
- oswajanie zwierząt z badaczami i niektórymi czynnościami w procedurach (handling),
- procedury eksperymentalne przeprowadzać będą osoby z wieloletnim stażem pracy ze zwierzętami laboratoryjnymi, stale podnoszące swoje kompetencje w tym zakresie;
- codzienne iniekcje dootrzewnowe będą wykonywane z zachowaniem szczególnych standardów higienicznych oraz w sposób ograniczający ból i dystres zwierząt;

- podawanie substancji z zastosowaniem cienkich igieł.
- stosowanie tylko 1 wstrząsu elektrycznego,
- stosowanie najmniejszych możliwych wartości natężenia prądu w teście biernego unikania, który zostanie przeprowadzony z wykorzystaniem najwyższej klasy sprzętu do badań behawioralnych (Multi Conditioning System, TSE). Funkcje oprogramowania aparatu są zgodne z wymogami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej (GLP)
- przeprowadzanie badań behawioralnych i pobieranie tkanek w odrębnych pomieszczeniach.

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.