

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: „Rola białka HuR w modelu udaru niedokrwinnego u szczura oraz w mechanizmach neuroprotekcyjnego działania minocykliny”

2. Czas trwania projektu: dwa lata

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): białko HuR/ udar niedokrwenny/ fotoudar/ minocyklina/ neuroprotekcja

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.

Udary mózgu są trzecią, co do częstości, przyczyną śmierci i główną przyczyną trwałego kalectwa i niepełnosprawności u osób dorosłych. Poszukiwanie efektywnych metod leczenia udaru niedokrwinnego jest konieczne. Udar niedokrwenny to zespół objawów klinicznych wynikających z upośledzonego przepływu krwi przez tkanki mózgu w następstwie zatkania światła naczynia krwionośnego przez skrzeplinę. Typowe ognisko udarowe składa się z martwiczonego rdzenia otoczonego strefą penumbry z niedotlenionymi, ale nadal żywymi neuronami. Penumbra stanowi strategiczny obszar dla stosowanych terapii leczniczych. Przywrócenie prawidłowego krążenia krwi może bowiem ocalić neurony strefy penumbry i ograniczyć powiększanie się obszaru martwicy.

Białko HuR występuje w ośrodkowym układzie nerwowym, gdzie zaangażowane jest w regulację wielu procesów np. stabilizuje mRNA które kodują białka związane ze stanem zapalnym, który towarzyszy udarowi niedokrwinnemu. Minocyklina może promować stabilizację białka HuR przez hamowanie jego antagonistów.

Antybiotyk ten jest stosowany w leczeniu zakażeń bakteryjnych, jednak od kilku lat wskazuje się na terapeutyczne działanie w schorzeniach układu nerwowego.

Celem doświadczenia będzie wyznaczenie zależności pomiędzy neuroprotektoryjnym działaniem minocykliny a rolą białka HuR w udarze niedokrwiennym. Chcemy zbadać bezpośredni wpływ minocykliny na stężenie frakcji cytoplazmatycznej białka HuR po wywołaniu udaru niedokrwiennego, co znacząco może wpływać na stabilizację penumbry, co bezpośrednio może mieć przełożenie na zwiększenie przeżywalności neuronów.

Badania zostaną przeprowadzone u dorosłych samców szczurów wędrownych, u których w znieczuleniu ogólnym indukowany zostanie udar niedokrwienny. Fotoudar zostanie wykonany poprzez podanie do żyły ogonowej fotouczulacza (rózu bengalskiego) a następnie naświetlaniu przez czaszkę ograniczonego obszaru białym światłem (3200K). Pod wpływem światła barwnik utworzy skrzepinę w naczyniach krwionośnych na obszarze naświetlania. Zwierzęta zostaną podzielone na trzy grupy doświadczalne: grupa z udarem bez podania minocykliny, grupa z udarem i podaniem minocykliny oraz grupa kontrolna z pozorowanym udarem bez podania fotouczulacza i bez podania minocykliny. Zwierzęta po wywołanym udarze nie będą odczuwać bólu, ponieważ obszar udaru jest bardzo mały, a kora mózgowa pozbawiona receptorów bólowych.

Dzień przed wywołaniem udarem oraz dzień przed eutanazją wszystkie zwierzęta będą poddawane ocenie sprawności fizycznej oraz koordynacji ruchowej, aby sprawdzić neuroprotektoryjne efekty minocykliny. Po zakończeniu eksperymentu zwierzęta zostaną poddane eutanazji przez wykwalifikowaną osobę. Mózgi zostaną pobrane do dalszych badań biochemicznych.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Planowane badania zostaną przeprowadzone z udziałem 144 samców szczura wędrownego (*Rattus norvegicus*)/Long Evans.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Uwzględnienie zasady zastąpienia:

Doświadczenie zakłada badanie wpływu minocykliny i roli białka HuR na przeżywalność neuronów strefy penumbry. Oczekiwany efekt leku obserwowany jest w strefie penumbry, której nie sposób odtworzyć podczas korzystania z innych metod, jak choćby z hodowli komórkowej. Badanie musi być zatem przeprowadzone na żywych organizmach, gdyż ewentualna hodowla komórkowa nie stwarza takich samych możliwości oceny. Wybór szczura jako zwierzęcia modelowego wynika z faktu, iż kaniulację żyły ogonowej łatwiej przeprowadzić u większego zwierzęcia. Zastosowanie szczurów szczepu Long Evans jest podyktowane tym, że są to szczury duże i bardzo spokojne, dobrze znoszące tego typu zabiegi.

Uwzględnienie zasady ograniczenia:

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

W proponowanych badaniach zostaną zastosowane nowoczesne metody pozwalające na maksymalnie dokładną ocenę i wyciągnięcie wiążących wniosków na podstawie doświadczeń wykonanych na najmniejszej możliwej liczbie osobników. Ilość zwierząt w liczbie 12 osobników na grupę jest niezbędna do prawidłowej i wiarygodnej oceny wyników uzyskanych w poszczególnych grupach. Liczba wykorzystywanych zwierząt w planowanym badaniu została ograniczona do minimum pozwalającego na zrealizowanie zamierzonego celu oraz na rzetelne wnioskowanie.

Uwzględnienie zasady udoskonalenia:

Badania nad udarami niedokrwiennymi Katedra Fizjologii prowadzi od 15 lat. Zespół przeprowadzający tego typu doświadczenia posiada ogromną wiedzę oraz praktykę w ich wykonywaniu. Metoda wywoływania udaru niedokrwiennego poprzez fotouczulenie pozwala na uzyskanie ogniskowego udaru z wyraźnym podziałem na strefę martwiczą i penumbry (obszar, w którym neurony są niedotlenione, ale żywe). Metoda ta jest dobrze poznana i zwalidowana w szczurzym modelu udaru niedokrwiennego. Z uwagi na niewielkie rany powstałe w powłokach ciała oraz powstanie ogniska udarowego o ograniczonej wielkości wydają się być najmniej traumatyzująca spośród dostępnych metod wywoływania udaru niedokrwiennego. Wywołanie udaru niedokrwiennego mózgu z uwagi na brak receptorów bólowych w korze mózgowej, nie powoduje u zwierząt bólu również po zabiegu.

Centrum Medycyny Doświadczalnej posiada zatrudnionego na stałe lekarza weterynarii co pozwala na ciągłe monitorowanie zdrowia i kondycji zwierząt po zabiegu i w razie potrzeby natychmiastową reakcję. Warunki w jakich będą przetrzymywane zwierzęta zarówno standard klatek, temperatura, wilgotność powietrza oraz wzbogacone środowisko pozwalają na maksymalny komfort zwierząt uczestniczących w doświadczeniu. Zwierzęta dodatkowo otrzymują papierowe domki i tunele z celulozy, które służą aktywizacji zwierząt i wzbogaceniu ich bytowego środowiska w klatce.

Zwierzęta zostaną poddane eutanazji w sposób humanitarny, przez osobę wykwalifikowaną do przeprowadzania tego typu zabiegów. Wykonywanie tej procedury przez osobę wykwalifikowaną, z zachowaniem wysokiego dobrostanu zwierząt przed i w trakcie w eutanazji pozwala na skuteczne ograniczanie poziomu odczuwanego stresu przez zwierzęta.

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.