

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

Tytuł projektu : **Model fibromialgii indukowanej rezerpiną – ocena aktywności przeciwbólowej, przeciwdepresyjnej i przeciwlękowej potencjalnie aktywnych leków.**

1.Czas trwania projektu2 lata.....

2.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) : fibromialgia, myszy, ropinirol, wortiooksetyna, model rezerpinowy.

3.Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) 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.

Fibromialgia (FM) charakteryzuje się obecnością rozległego bólu mięśniowo-szkieletowego, zwykle związanego z innymi objawami, takimi jak intensywne zmęczenie, zaburzenia snu, depresja, zaburzenia poznawcze i zaburzenia nastroju.

Choroba ta dotyka około 2-4% ogólnej populacji ludzi na całym świecie, przy czym 10-krotnie częściej chorują kobiety. Etiologia tego schorzenia jest do tej pory nie do końca poznana, w patogenezie wymienia się takie czynniki jak stres, inne choroby chorego, dysfunkcję centralnej regulacji bólem i współwystępujący ból u niektórych chorych, jednak nie u wszystkich.

Terapia jest bardzo zróżnicowana, opiera się na zastosowaniu różnych leków oraz terapii

niefarmakologicznych jak: ćwiczeń fizycznych, akupunktury, masaży, ultradźwięków czy kąpieli mineralnych i innych. Jednakże leczenie to nie przynosi zadowalających efektów. Pomimo stosowania różnych kombinacji związków i dodatkowo włączania w trakcie leczenia metod niefarmakologicznych u części pacjentów nie otrzymuje się zadowalającej poprawy kondycji fizycznej i złagodzenia objawów zarówno somatycznych jak i psychicznych.

W ramach projektu planowane jest przebadanie wybranych leków dostępnych na rynku farmaceutycznym pod kątem ich potencjalnego zastosowania w leczeniu złożonych objawów obserwowanych u chorych cierpiących na FM. Model zwierzęcy fibromyalgii opiera się na wielokrotnym podaniu roztworu rezerpiny. Jest to stosunkowo nowa metoda w środowisku farmakologicznym, oparta na wywołaniu spadku stężenia amin biogennych min. poziomu dopaminy i serotoniny w strukturach ośrodkowego układu nerwowego, w wyniku czego dochodzi do rozwoju allodynni mechanicznej, sensytyzacji termicznej oraz indukcji zaburzeń depresyjnych i lękowych.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mysz domowa (*mus musculus*) – samce, Krf: CD-1: 250 osobników

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Badania z wykorzystaniem modeli *in vivo* stanowią bardzo istotny element poznania właściwości nowych substancji wykazujących działanie przeciwbólowe, a celowość ich zastosowania ma swoje uzasadnienie w literaturze naukowej, niezwykle szeroko przedstawionej w bazach danych Science Direct. Stąd też nie jest możliwe zrezygnowanie z ich prowadzenia, zwłaszcza w przypadku leków, co do których istnieje szansa na wprowadzenie ich do farmakoterapii FM – która jest opornym na leczenie schorzeniem reumatycznym.

Przygotowany do oceny projekt badawczy powstał w oparciu o istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: PUBMED, ScienceDirect, Web of Science (JCR).

Słowa kluczowe: fibromyalgia model, mice, reserpine, mouse models of fibromyalgia, vortioxetine and fibromyalgia, ropinirol and fibromyalgia

Dostępna literatura wskazuje, iż myszy są odpowiednim gatunkiem do wykonania planowanych doświadczeń, a planowanych procedur nie można ich zastąpić innymi - bez udziału zwierząt. W miarę możliwości będzie się dążyć do ograniczania liczby zwierząt używanych w testach behawioralnych; badania zostaną przeprowadzone przez doświadczonych eksperymentatorów w sposób wysoce humanitarny, aby zadawać zwierzętom jak najmniej cierpienia.

Przy wykonywaniu badań behawioralnych będzie się postępować zgodnie z przyjętą metodyką testów, z wykorzystaniem sprzętu wysokiej klasy. Każdy z pracowników wykonujących badania behawioralne

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

jest zaznajomiony z aktualnie obowiązującymi przepisami dotyczącymi zwierząt doświadczalnych.

Do naszych doświadczeń wybraliśmy myszy z uwagi na opracowany i stosowany przez nas od kilku lat model doświadczalny stosowany w poszukiwaniu skutecznego leczenia i prewencji innych modeli bólu, depresji i lęku. Badania są nowatorskie, ponieważ w chwili obecnej brak jest skutecznych metod efektywnego leczenia bólu w przebiegu FM. Również ze względu na niejasny mechanizm powstawania, złożoność objawów oraz ciągle zmieniające się wytyczne diagnostyczne FM stanowi wyzwanie współczesnej farmakologii.

Sposób realizacji zasady 3R

1. Udoskonalenie

Zwierzęta

- Wykorzystywane zwierzęta (myszy) będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku.
- Jednopłciowe grupy badawcze (samce) pozwolą na uniknięcie rywalizacji samców o samicę oraz zredukowanie ilości zmiennych (związanych z płcią) na możliwy rozrzut otrzymanych wyników.
- Zastosowanie właściwej diety; zwierzęta będą karmione certyfikowaną paszą bytową.
- Od pierwszego dnia procedury zwierzęta będą przetrzymywane w klatkach o powierzchni 420x265x180, 825 cm³, po 8 osobników w klatce.
- Stały kontakt i pomoc ze strony lekarza weterynarii pozwolą na zapewnienie odpowiednich warunków bytowych.

Pomieszczenie bytowe

- Zwierzęta będą przebywały w pomieszczeniu bytowym służącym tylko do tego celu, w którym nie będą wykonywane czynności tj. iniekcje, eksperyment, uśmiercanie.
- Pomieszczenie bytowe będzie oddzielone od pozostałych pomieszczeń eksperymentalnych. Pozwoli to na redukcję hałasu oraz ograniczy narażenie na czynniki stresogenne. Pomieszczenie to jest wyposażone w stały system monitorowania temperatury i wilgotności.
- Codzienna kontrola stanu zwierząt oraz wymiana ściółki (co 2 dni) pozwolą na szybkie zidentyfikowanie wszystkich chorych lub okaleczonych zwierząt i podjęcie odpowiednich działań oraz zapewnienie higieny.

Sala eksperymentalna

- Czynności tj. iniekcje badanych substancji, będą wykonane w tzw. sali eksperymentalnej

Metoda badawcze

- Zastosowane metody badawcze zostały wybrane tak aby ograniczyć do minimum albo eliminować ból, cierpienie.
- Opracowane instrukcje postępowania zapewnią ich regularny i powtarzalny sposób wykonania co

ograniczy stres zwierząt.

- Wszystkie czynności będą wykonywane przez znanego zwierzętom i doświadczonego eksperymentatora.
- Podawane zwierzętom w trakcie doświadczenia roztwory będą miały temperaturę zbliżoną do temperatury ciała myszy, co zapewni uniknięcie szoku temperaturowego i uczucia dyskomfortu.
- Badane substancje będą rozpuszczane w roztworach nie indukujących podrażnienia tkanek.
- Na końcu każdej procedury myszy zostaną uśmiercone przez zastosowanie dyslokacji kręgów szyjnych a narządy wykorzystane będą do dalszych oznaczeń biochemicznych.
- Eksperymentator zgłasza pełną gotowość do przeprowadzenia zabiegu uśmiercania w przypadkach nagłych przez zastosowanie humanitarnej procedury uśmiercania.

2. Ograniczenie

- Do doświadczeń wybrano samce myszy CD-1 z uwagi na opracowane w Katedrze Farmakodynamiki UJ CM schematy doświadczeń.
- Na ograniczenie ilości wykorzystanych zwierząt pozwalają także inne czynności minimalizujące zmienność i zwiększające powtarzalność pomiarów takie jak: stabilna pasza, jednorodność grup badanych pod względem wieku, masy ciała oraz płci (samce); równy okres kwarantanny; ten sam/znany eksperymentator, zachowanie reżimu czasowego procedur.
- W celu uzyskania wiarygodnych, istotnych statystycznie wyników każda z grup doświadczalnych liczyć będzie 15 zwierząt.

3. Zastąpienie

- W celu zweryfikowania hipotezy badawczej (oznaczenie aktywności analgetycznej badanego leku/leków) nie można zastosować metody wykluczającej wykorzystanie zwierząt doświadczalnych.
- Zastosowanie zwierząt w planowanym doświadczeniu pozwoli na poznanie działania badanej substancji na cały organizm i jest podstawą oceny jego wpływu na funkcjonowanie tkanek, a także wzajemne interakcje między nimi. Jest to niemożliwe przy zastosowaniu procedur in vitro, czy in silico.
- Planowane badania należą do grupy badań podstawowych, mających na celu poznanie działania badanego związku i nie ma możliwości zastąpienia w nich zwierząt metodami alternatywnymi.

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.