

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Badania zmian aktywności kory mózgowej pod wpływem ketaminy i nieinwazyjnej stymulacji prądowej – doświadczenia w znieczuleniu ogólnym

2. Czas trwania projektu 10.06.2019 - 10.06.2019 .....

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) wysokoczęstotliwe oscylacje, opuszka węchowa, antagoniści receptorów NMDA, nieinwazyjna stymulacja prądowa, choroba De Vivo

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.

Zgodnie z zasadą ograniczenia, w jednej procedurze planujemy zbadać 3 zagadnienia: (1) weryfikacja elektrofizjologicznego biomarkera schizofrenii w mózgu wyższych ssaków; (2) neuronalny mechanizm działania medycznej procedury nieinwazyjnej przezgałkowej stymulacji elektrycznej (NPSE); (3) ocena zakresu dyfuzji glukozy z układu komorowego mózgu jako możliwej terapii w przypadku choroby De Vivo.

Ad 1) Schizofrenia to poważna choroba psychiczna dotykająca 1% populacji. Do jej badania stosuje się między innymi modele oparte o podanie ketaminy – leku znieczulającego wywołującego u ludzi objawy psychotyczne. U gryzoni, podanie ketaminy powoduje generację (w opuszce węchowej) i rozprzestrzenianie się w wielu strukturach mózgu patologicznych wysokoczęstotliwościowych oscylacji (HFO). W obecnym projekcie

planujemy sprawdzić, czy te oscylacje są powszechne u także u wyżej rozwiniętych ssaków i mogą być uznane za biomarker schizofrenii.

Ad 2) NPSE są stosowane u ludzi w przypadku wielu schorzeń układu wzrokowego (np. jaskra, uszkodzenia nerwu wzrokowego lub siatkówki, utrata wzroku po uszkodzeniu mózgu, zwyrodnienie plamki żółtej, amblyopia). W wyniku terapii u pacjentów obserwowano poprawę detekcji obrazów w uszkodzonych sektorach pola widzenia. Pomimo, że stymulację elektryczną stosuje się od około 20 lat, nie wiadomo w jakim mechanizmie ta eksperymentalna terapia wpływa na funkcjonowanie sieci neuronalnych mózgu. W celu oceny zasięgu i charakteru aktywności wyzwalanej w mózgu przez PSE, planujemy wykonać rejestracje elektrofizjologiczne ze wszystkich warstw kory mózgowej w kilku miejscach w zwiększającej się odległości od miejsca stymulacji.

Ad 3) Choroba De Vivo - mutacja w genie kodującym białko GLUT1 (odpowiedzialnym m.in. za transport glukozy przez barierę krew-mózg) prowadzi do rozwoju chorób takich jak padaczka, ataksja, mikrocefalia, opóźnienie umysłowe. Proponowane leczenie mogłoby polegać na podawaniu glukozy z pomp infuzyjnych bezpośrednio do układu komorowego mózgu. Planujemy sprawdzenie biodostępności tak podanej glukozy w tkankach całego mózgu. W tym celu do komory bocznej podana zostanie znakowana radioizotopem glukoza, a zasięg jej dyfuzji określony będzie post-mortem przez rejestrację na kliszy RTG promieniowania ze skrawków mózgu.

Doświadczenie składać się będzie z jednej procedury terminalnej. Zwierzęta w znieczuleniu ogólnym poddane będą wstępnej operacji neurochirurgicznej, umożliwiającej wprowadzenie do mózgu wielokanałowych elektrod i rejestrację aktywności neuronalnej zgodnie z postawionymi pytaniami (1) i (2). Po zakończeniu rejestracji elektrofizjologicznych, do komory bocznej zostanie podany roztwór znakowanej glukozy. Po godzinie zwierzęta zostaną uśpione letalną dawką Morbitalu i poddane perfuzji. Pobrane tkanki mózgu posłużą do weryfikacji lokalizacji elektrod oraz zakresu dyfuzji glukozy.

## 6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Kot domowy ( <i>Felis catus</i> )	Liczba zwierząt : 3
-----------------------------------	---------------------

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam/sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych:

PUBMED; Web of Science (JCR);

Wykorzystane słowa kluczowe: high frequency oscillations, ketamine, ketamine psychotic effects, , olfactory bulb, transorbital stimulation, choroba de Vivo, GLUT1 deficiency syndrome, intraventricular infusion.

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że:

1. Wysokoczęstotliwe oscylacje (HFO) u gryzoni występują w wielu obszarach mózgu po podaniu antagonistów receptorów NMDA (ketaminy), a opuszka węchowa odgrywa nadrzędną rolę w ich generowaniu. HFO zanikają po podaniu środków antypsychotycznych. U zdrowych ludzi podanie ketaminy wytwarza stany przypominające symptomy schizofrenii. W osób ze zdiagnozowaną schizofrenią zaobserwowano post mortem patologiczne zmiany w opuszce węchowej.
2. Nieinwazyjne przezgałkowe stymulacje prądowe u pacjentów z patologicznymi zmianami układu wzrokowego powstającymi na skutek choroby lub urazu pozwalają odzyskać część pola widzenia lub poprawić detekcję w uszkodzonych sektorach pola widzenia.
3. Choroba De Vivo prowadzi do poważnych zaburzeń neurologicznych. Jedyna dostępna terapia, polegająca na stosowaniu diety ketogennej, jest nietolerowana przez część pacjentów. W uzasadnionych przypadkach w neurologii stosuje się podawanie środków w stałym wlewie do układu komorowego mózgu.

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że:

1. Opuszka węchowa odgrywa nadrzędną w generowaniu HFO u gryzoni.
2. Nieinwazyjne przezgałkowe stymulacje prądowe zmieniają aktywność hemodynamiczną mózgu.

B. Brak jest danych dotyczących następujących kwestii:

1. Czy HFO występują w opuszce węchowej u ssaków wyższych (kotów), których połączenia w obrębie sieci neuronalnych przypominają te u ludzi.
2. Jak rozprzestrzenia się w korze mózgowej prąd podawany w trakcie nieinwazyjnych przezgałkowych stymulacji prądowych, i jaki ma wpływ na elektryczną aktywność neuronalną w poszczególnych warstwach kory mózgu.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

A/ Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku

1. poznawania mechanizmów powstawania HFO u ssaków wyższych;
2. poznania mechanizmów działania nieinwazyjnych przezgałkowych stymulacji prądowych i ich wpływu na elektryczną aktywność kory mózgu i na funkcjonowanie sieci neuronalnych w poszczególnych jej warstwach;
3. określenie możliwości odżywiania tkanki mózgu przez podanie glukozy do płynu mózgowo-rdzeniowego

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na

W przypadku zarejestrowania HFO w opuszcze węchowej kota można przypuszczać, że taka patologiczna aktywność występuje również u ludzi. Taki wynik stanowiłby przesłankę do podjęcia prób wyizolowania HFO z sygnałów rejestrowanych z mózgu ludzkiego.

Badanie efektów nieinwazyjnych przezgałkowych stymulacji prądowych może przyczynić się do zrozumienia mechanizmu działania tej terapii i w dalszej perspektywie do jej udoskonalenia.

Opracowaniu nowej metody terapii choroby de Vivo w przypadku pacjentów nietolerujących diety ketogennej.

Uwzględnienie w doświadczeniu zasad zastąpienia, ograniczenia i udoskonalenia:

Badania przewidziane w projekcie ukierunkowane są na obserwację zjawisk związanych z patologicznym funkcjonowaniem i terapią mózgu ludzkiego, ale ze względu na inwazyjność (wprowadzenie elektrod rejestrujących do kory mózgowej i opuszki węchowej) nie mogą być przeprowadzone u ludzi. Badania wymagają ssaków wyższego rzędu, których parametry mózgu i sieciowe połączenia neuronalne są w dużej mierze zbliżone do tych występujących w mózgu ludzkim.

**ZASADA ZASTĄPIENIA:**

Gatunki z wyboru do badań układu wzrokowego to ssaki naczelne, koty i fretki. Reguła zastąpienia wymaga wyboru niżej rozwiniętych gatunków – kota lub fretki. Wybór kotów uzasadniony ich dostępnością w lokalnej hodowli co pozwala na wyeliminowanie stresującego transportu zwierząt z odległych hodowli.

**ZASADA OGRANICZENIA:**

W celu ograniczenia liczby wysokorozwiniętych zwierząt (kotów), wykorzystanych do doświadczeń, planujemy wykonanie – na każdym osobniku – kolejno trzech niezależnych i niekolidujących ze sobą badań. Badania zostaną przeprowadzone na minimalnej liczbie trzech osobników. Jedynie w przypadku poważnych wątpliwości

co do wyników badań wnioskować będziemy o zgodę na zbadanie dodatkowych zwierząt.

ZASADA UDOSKONALENIA jest realizowana na poziomie zapewnienia najlepszych warunków bytowania zwierząt i opieki weterynaryjnej przed i w czasie zabiegu i doświadczenia. Wszystkie procedury i czynności zostaną przeprowadzone w głębokim znieczuleniu ogólnym. Indukcja narkozy dokonana zostanie przez weterynarza, w boksach mieszkalnych zwierząt w obecności dobrze znanych opiekunów. W przygotowawczej fazie doświadczenia kotom podane zostaną środki przeciwbólowe. Doświadczenia prowadzone będą w znieczuleniu ogólnym, a po jego zakończeniu koty nie będą już wybudzane.

Zasady ograniczenia i udoskonalania zostaną także zrealizowana przez zastosowanie najnowszej metodyki badawczej. Wielokanałowe elektrody pozwolą na rejestracje dużej ilości danych z minimalnej liczby zwierząt.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną<sup>2</sup>

- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☒ X TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- ☐ NIE

---

<sup>2</sup> Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.