

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu. **Badania nad patogenezą jaskry – rola metabolitów bakteryjnych.**

2. Czas trwania projektu 01.06.2017 -31.12.2020

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) jaskra, TMAO, siarkowodór.

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) Badania podstawowe.

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.

Jaskra, neuropatia nerwu wzrokowego, jest najczęstszą przyczyną ślepoty w krajach rozwiniętych, a podwyższone ciśnienie wewnątrzgałkowe jest jedynym czynnikiem ryzyka rozwoju jaskry, który podlega monitorowaniu i modyfikacji w praktyce klinicznej. Obecnie trwają poszukiwania substancji odpowiedzialnych za wzrost ciśnienia wewnątrzgałkowego, a ich zidentyfikowanie może przyczynić się do opracowania nowych leków przeciwjaskrowych. Hipoteza tego doświadczenia zakłada, że metabolity bakterii jelitowych, takie jak TMAO oraz siarkowodór, poprzez wpływ na mechanizmy regulujące krążenie cieczy, wodnistej mogą wpływać wzrost ciśnienia wewnątrzgałkowego oraz na rozwój jaskry.

Hipoteza tego doświadczenia zakłada, że metabolity bakterii jelitowych, takie jak TMAO lub siarkowodór mogą wpływać na regulację ciśnienia wewnątrzgałkowego i zmieniać osobniczą podatność na rozwój neuropatii nerwu wzrokowego

Badanie zostanie przeprowadzone na szczurach Sprague-Dawley (SPRD). U części badanych szczurów zostanie wywołana jaskra przez podanie mikrosfer do komory przedniej gałki ocznej. Ponadto, szczury zostaną poddane działaniu soli fizjologicznej, siarkowodoru oraz TMAO.

Wszystkie pomiary będą odbywały się w znieczuleniu ogólnym. Wszystkie procedury, z wyjątkiem wstrzyknięcia mikrosfer do komory przedniej w celu wywołania jaskry, będą procedurami terminalnymi. Ciśnienie wewnątrzgałkowe będzie mierzone metodą bezpośrednią lub przy użyciu instrumentu Tono-Pen. Pomiar ciśnienia tętniczego będzie wykonywany metodą bezpośrednią po wszczępieniu cewnika do tętnicy udowej. Ponadto zostaną wykonane badania biochemiczne obejmujące oznaczenie wybranych parametrów we krwi.

Proponowany projekt przyczyni się do poszerzenia wiedzy z zakresu patogenezы jaskry, regulacji ciśnienia wewnątrzgałkowego oraz wpływu metabolitów bakteryjnych na rozwój jaskry.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy sprawdzono istniejącą wiedzę na temat wpływu cukrzycy oraz nadciśnienia tętniczego na rozwój jaskry w następujących bazach danych: Google Scholar, PUBMED, Web of Science

Przy użyciu następujących słów kluczowych:

TMAO, hydrogen sulfide, glaucoma, neuropathy

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzam, że obecnie nie ma dostępnych pełnych, empirycznych danych mówiących o wpływie TMAO i siarkowodoru na rozwój jaskry. Znalezione następujące pośrednie dowody na potencjalny związek jaskry z TMAO i siarkowodorem

Głównym czynnikiem ryzyka rozwoju jaskry jest podwyższone ciśnienie wewnątrzgałkowe, które jest regulowane przez szereg różnych hormonów, w tym angiotensynę II. Najnowsze doniesienia wskazują, że TMAO może przedłużać systemowy, hipertensyjny efekt angiotensyny II. Hipoteza badania dotyczącego wpływu TMAO na patogenezę jaskry zakłada, że poprzez modulowanie działania angiotensyny II w obszarze oka, w tym ciała rzęskowego, TMAO może wpływać także na ciśnienie wewnątrzgałkowe. Ponadto, TMAO jako tzw. białko chaperonowe, może chronić komórki nerwu wzrokowego przed apoptozą indukowaną zwiększonym ciśnieniem wewnątrzgałkowym. Dodatkowo, jako substancja osmotycznie czynna, może dyfundować do ciała szklanego, zmieniać jego objętość i w tym mechanizmie regulować ciśnienie wewnątrzgałkowe.

Ponadto, wykazano, że siarkowodor, jeden z metabolitów bakterii jelitowych może wpływać na regulację układu krążenia, np. przez wpływ na funkcję układu współczulnego. Biorąc pod uwagę, że regulacja krążenia cieczy wodnistej, a tym samym ciśnienia wewnątrzgałkowego, również opiera się o impulsację współczulną oraz układ, można przypuszczać że metabolity bakterii jelitowych mają znaczący wpływ na patogenezę jaskry.

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

Replacement – Zastąpienie :

Wybrany model szczura jest modelem optymalnym dla wyżej opisanych badań. Badane zjawiska są wypadkową współdziałania wielu narządów, tkanek oraz hormonów dlatego też nie możliwe jest zastosowanie metod alternatywnych tj. hodowle komórkowe, tkankowe. Również istota samych obserwacji jak ciśnienie wewnątrzgałkowe, czy ciśnienie krwi, reakcja na wykonywane procedury chirurgiczne wymaga badań na żywym zwierzęciu. Nie jest możliwe również zastąpienie opisanego modelu zwierzętami o niższym rozwoju ewolucyjnym ze względu na różnice: anatomiczne dużych naczyń oraz fizjologiczne w reakcjach na podawane substancje, których efekty działania u innych grup organizmów niż ssaki nie mogą być w pełni obiektywne, ze względu na ograniczony stopień ich poznania. Ponadto optymalna jest wielkość zwierząt i możliwość wykonywania zabiegów na naczyniach krwionośnych. Co ważne zespół badawczy ma doświadczenie w pracy ze szczurem wędrownym w zakresie chirurgii naczyniowej co gwarantuje zarówno bezpieczeństwo dla zwierząt zarówno w zakresie anestezji jak i samego zabiegu. Szczur wędrowny jest najczęściej używanym zwierzęciem laboratoryjnym w badaniach z zakresu fizjologii eksperymentalnej, dlatego uzyskane wyniki będzie można łatwo zweryfikować, odnieść do innych badań i wyciągnąć jak najpełniejsze wnioski. Należy podkreślić, że wyniki badań mogą przyczynić się do lepszego zrozumienia udziału metabolitów bakteryjnych w rozwoju jaskry.

Reduction - Ograniczenie:

Przyjęto najmniejszą statystycznie istotną liczebność grup badanych tj. ok. 7 osobników na serię eksperymentalną. Należy podkreślić, że wykonywane zabiegi w minimalnym stopniu stwarzają ryzyko zgonu zwierzęcia, dlatego większe ograniczenie wielkości grup może skutkować w przypadku upadku pojedynczych zwierząt utratą istotności statystycznej w opisanych badaniach, a tym samym nieważność uzyskanych wyników.

Refinement - Udoskonalenie:

W celu ograniczenia stresu i cierpienia zwierząt w opisanej procedurze zastosowano protokół badania zakładający przeprowadzenie wszystkich doświadczeń w znieczuleniu ogólnym. Dodatkowo, wszystkie

procedury, z wyjątkiem wywołania modelu jaskry, są procedurami terminalnymi.

Zwierzęta w czasie zabiegów będą poddane znieczuleniu ogólnemu z zastosowaniem analgezji okołoperacyjnej, również wyprzedzającego (przedoperacyjnego) podawania środków przeciwbólowych.