

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1.Tytuł projektu: Wyjaśnienie mechanizmów neuroprotekcynnego działania specyficznego agonisty receptorów Y2 NPY13-36 w modelu przejściowego, ogniskowego niedokrwienia mózgu u szczurów normotensyjnych i szczurów z genetycznie uwarunkowanym nadciśnieniem tętniczym (SHR)

2.Czas trwania projektu: 3 lata (08.05.2017 – 08.05.2020)

3.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): NPY13-36, niedokrwienie mózgu, mechanizmy neuroprotekcji

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 doświadczenia jest kompleksowe zbadanie mechanizmów neuroprotekcynnego działania specyficznego agonisty receptorów Y2 – NPY13-36 w modelu przejściowego, ogniskowego niedokrwienia mózgu (MCAO) u szczurów normotensyjnych i z wrodzonym nadciśnieniem tętniczym (SHR). Dotychczasowe badania wykonane przez nasz zespół na szczurach normotensyjnych i SHR wykazały, że podanie NPY13-36 w trakcie niedokrwienia oraz 30 minut po nim, istotnie zmniejsza obszar poniedokrwiennej martwicy mózgu i zaburzenia chodu. Podłoże tego efektu ochronnego jest niewyjaśnione. Mechanizmy udaru niedokrwiennego mózgu są niezwykle złożone, jednakże można wyróżnić kilka kluczowych procesów: przejściowe, spontaniczne aktywacje dużych grup neuronów;

utratę komunikacji neuron – astrocyt – naczynie krwionośne; następne zaburzenia mózgowego mikroprzepływu krwi. Dodatkowo, czynniki ryzyka – np. nadciśnienie tętnicze pogarszają przebieg udaru. Proponowane badania określą wpływ NPY13-36 na wymienione procesy a ponadto ocenią czy badana substancja ma właściwości pobudzające naturalny proces naprawczy – powstawanie nowych naczyń krwionośnych.

Udar niedokrwienny mózgu jest poważnym schorzeniem, często powodującym śmierć lub znaczną i trwałą niepełnosprawność dotkniętych nim osób. Niepełnosprawność poudarowa upośledza funkcjonowanie całego organizmu, pogarsza komfort życia pacjentów i wymaga zaangażowania środków finansowych i osób trzecich. Szacunki epidemiologiczne WHO wykazują duży odsetek zachorowań z tendencją do wzrostu. Mimo intensywnych badań i obiecujących wyników prac doświadczalnych wskazujących na możliwość farmakologicznej ochrony mózgu przed skutkami niedokrwienia, dotychczas nie znaleziono substancji, która byłaby skuteczna u pacjentów. Dzięki niniejszym badaniom pojawia się nadzieja na skuteczniejsze leczenie udaru u ludzi w przyszłości.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

(*Rattus norvegicus*,) szczur laboratoryjny Sprague-Dawley – 96 osobników

(*Rattus norvegicus*) szczur laboratoryjny ze spontanicznym nadciśnieniem tętniczym (SHR) – 96 osobników

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Zgodnie z art. 4 Dyrektywy 2010/63/EU oraz art. 5 ust. 1 Ustawy z dnia 15 stycznia 2015 r. o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych lub edukacyjnych.

W fazie projektowania doświadczenia sprawdzono obecny stan wiedzy w zakresie tematu badawczego opisanego w niniejszym wniosku. Sprawdzone materiały dostępne w następujących bazach danych: PubMed, ScienceDirect, Google Scholar, przy wykorzystaniu następujących słów kluczowych: NPY, NPY13-36, agonist of Y2 receptors, stroke, MCAO, rats, SHR, hypertension, neurovascular unit, periinfarct depolarisations (PID), angiogenesis, penumbra.

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

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że:

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że:

- 1). Specyficzny agonista receptorów Y2 (NPY13-36) istotnie zmniejsza rozległość poniedokrwiennej martwicy mózgu oraz zaburzenia chodu w szczurzym modelu ogniskowego niedokrwienia/reperfuzji mózgu (zarówno po jego podaniu w trakcie niedokrwienia jak i po nim). Ponadto wykazano jego istotne działanie wygaszające stany drgawkowe w mysim modelu epilepsji *in vivo* – co sugeruje możliwy wpływ na procesy patologicznego wzbudzenia dużych obszarów mózgu, występujące w patofizjologii niedokrwienia mózgu.
- 2). Zagadnienie mechanizmów neuroprotekcyjnego wpływu NPY13-36 w eksperymentalnym ogniskowym niedokrwieniu i reperfuzji mózgu u szczura jest niezbadane.

B. Brak jest danych dotyczących:

Możliwości zastąpienia zwierząt innym materiałem lub metodologią (np. modelami *in vitro* lub *in silico*). Niniejsze doświadczenia kładą nacisk na badania zmian poudarowych w kilku typach tkanek mózgu oraz procesów, w które zaangażowane są duże grupy komórek mózgu.

Dotychczas nie zbadano wpływu potencjalnej substancji leczniczej (specyficznego agonisty receptorów Y2) na mechanizmy uszkadzające mózg w czasie jego niedokrwienia: depolaryzacje około zawałowe (PID), rozpad jednostki neuro-naczyniowej, zaburzenia regulacji mózgowego mikrokrażenia krwi. Ponadto brak jest danych na temat indukcji procesów naprawczych w mózgu (np. angiogenezy) poprzez selektywne pobudzenie receptorów Y2.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

A. Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku

Określenia mechanizmów wpływu neuroprotekcyjnego specyficznego agonisty receptorów Y2 w przejściowym, ogniskowym udarze niedokrwinnym mózgu. Lepszego zrozumienia możliwości neuroprotekcji w ogóle.

B. Zastosowanie uzyskanej wiedzy:

Wyniki badań przyczynią się do zrozumienia mechanizmów działania neuroprotekcyjnego badanej substancji w modelu udaru niedokrwinnego mózgu – ważnego zagadnienia z punktu widzenia badań podstawowych i potrzeb klinicznych.

Uzyskane wyniki zostaną opublikowane w czasopiśmie naukowym o zasięgu międzynarodowym.

Uwzględnienie zasady 3R (W. Russel, R. Burch, 1959):

ZASTĄPIENIE

Ze względu na ogromną złożoność mózgu oraz złożoność procesów patofizjologicznych przebiegających w czasie jego niedokrwienia - nie jest możliwe zastąpienie proponowanego zwierzęcego modelu ogniskowego niedokrwienia/reperfuzji mózgu modelami alternatywnymi, które byłyby użyteczne do rozwiązywania postawionych problemów badawczych.

OGRANICZENIE

Liczba zwierząt planowanych do wykorzystania została obiektywnie oszacowana na podstawie prawidłowości statystycznych z zastosowaniem programu komputerowego. Z oszacowania wynika że

wnioskowana liczba zwierząt jest optymalna dla uzyskania wartościowych danych, a tym samym zredukowana do koniecznego minimum.

UDOSKONALENIE

Doświadczenie/procedury zostanie przeprowadzone z uwzględnieniem światowych standardów metodologicznych, przez osoby mające odpowiednie umiejętności i doświadczenie oraz zaznajomione z obowiązującymi przepisami w zakresie eksperymentów na zwierzętach. W trakcie doświadczenia zwierzęta będą miały zapewnione warunki adekwatne do wymagań swojego gatunku a środowisko ich klatek zostanie wzbogacone. Będą one stopniowo przyzwyczajane do eksperymentatora, ponadto liczba osób pracujących z badanymi zwierzętami została zredukowana do minimum. W czasie zabiegów operacyjnych zwierzęta będą wprowadzane w narkozę, a po nich zostaną im podane środki przeciwbólowe.