

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „Wpływ wielokrotnego podania mefedronu oraz minocykliny w okresie młodzieńczym na konsolidację pamięci wywołaną bodźcem awersyjnym (lękowym) u młodych dorosłych i dojrzałych szczurów. Rola metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej-9 (MMP-9)”

1. 2. Czas trwania projektu 01.12.2019 – 01.05.2021
2. 3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): mefedron, MMP-9, bodziec awersyjny, pamięć, szczury
3. 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.

Mefedron to syntetyczna substancja odurzająca, która przypomina działaniem i szkodliwością znane od dawna środki o działaniu pobudzającym i euforyzującym, takie jak amfetamina. Mefedron używany jest najczęściej przez osoby młode w celach rekreacyjnych, jednak odległe skutki jego stosowania nie są znane. Jako substancja silnie działająca na układ nerwowy mefedron może wywołać wiele objawów niepożądanych, między innymi zaburzenia pamięci. Metaloproteinazy, wśród nich metaloproteinaza-9 (MMP-9) są enzymami, które biorą udział w uczeniu i tworzeniu pamięci, jak i w procesach neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Alzheimera. Różne substancje uzależniające wpływają na poziom metaloproteinaz, w tym na MMP-9. Minocyklina jest półsyntetycznym antybiotykiem, który poza aktywnością przeciwdrobnoustrojową posiada zdolność hamowania MMP-9. Celem doświadczenia jest przebadanie wpływu wielokrotnego podania młodym szczurom mefedronu w różnych dawkach na utrwalanie pamięci wywołanej bodźcem lękowym u młodych dorosłych i dojrzałych

szczurów. Minocyklina będzie podawana codziennie szczurom otrzymującym mefedron w czasie dorostania. Do badania pamięci użyty zostanie test lęku warunkowanego. Po zakończeniu badań pobrane zostaną odpowiednie struktury mózgu do badań biochemicznych, podczas których oznaczona zostanie ekspresja MMP-9. Można przypuszczać, że wcześniejsze podawanie mefedronu młodym szczurom zaburzy procesy pamięci związane z lękiem u szczurów dorosłych. Natomiast kluczowe pytanie jest, czy zastosowanie minocykliny, a zatem zahamowanie aktywności MMP-9 wpłynie na ten proces. Planowane badanie będzie wywierało umiarkowane dotkliwy wpływ na zwierzęta, a otrzymane wyniki będą znacząco poszerzać wiedzę na temat niekorzystnych skutków używania mefedronu oraz roli MMP-9 w tych procesach.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

80 osobników. Szczur wędrowny (*Rattus norvegicus*) stada Wistar.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdziłam, że A) nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że MMP-9 bierze udział w procesach plastyczności synaptycznej związanej z działaniem substancji psychoaktywnych, włączając mefedron, B) brak danych przedklinicznych na temat wpływu mefedronu podawanego w okresie młodzieńczym na procesy pamięci warunkowanej lękiem u młodych dorosłych i dojrzałych szczurów. Brak danych dotyczących roli MMP-9 w wywołanych mefedronem zaburzeniach pamięci związanych z bodźcem awersyjnym (lęk).

Przygotowując projekt badawczy zastosowałam zasadę 3R:

REPLACEMENT - zastąpienie doświadczeń na zwierzętach metodami *in vitro* (hodowle komórkowe, tkankowe), zastąpienie zwierzętami o niższym stopniu rozwoju ewolucyjnego;

Ze względu na zaplanowane testy behawioralne, a także pobieranie struktur mózgowych, niemożliwe jest zbadanie wpływu mefedronu podawanego w okresie młodzieńczym na aktywność metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej-9 (MMP-9) w różnych strukturach mózgu szczurów młodych dorosłych i dojrzałych szczurów za pomocą techniki *in vitro*, szczególnie, że niezwykle istotna jest interakcja pomiędzy mefedronem a minocykliną. Niewskazane jest także, zastąpienie szczurów wędrownych zwierzętami o niższym stopniu rozwoju ewolucyjnego, z tego względu, że doświadczenia te nie dostarczą wyników tak wiarygodnych jak te, które przeprowadzone są na szczurach i które będzie można odnieść do problemów klinicznych obserwowanych u ludzi. Badania te mogą się przyczynić się do poznania roli MMP-9 w działaniu mefedronu.

REDUCTION - zmniejszenie liczby zwierząt poprzez lepsze wykorzystanie metod statystycznych.

W badaniach zaplanowano najmniejszą liczbę zwierząt (n=8), pozwalającą na uzyskanie wiarygodnych wyników behawioralnych, stwarzających możliwość analizy statystycznej. W celu zmniejszenia liczby zwierząt użytych do doświadczeń zastosowane grupy ograniczono do minimum, wyeliminowano grupy, które można zastąpić danymi powszechnie dostępnymi. Przy określeniu liczby zwierząt oraz grup biorących udział w eksperymentach wykorzystano informacje zawarte na stronie: <http://biomath.info/power/index.htm>. Minimalizacja liczności zwierząt w grupie doświadczalnej była możliwa również dzięki minimalizacji zmienności

wśród zwierząt poprzez stały mikroklimat w Zwierzętarni podczas doświadczenia, użycie zwierząt SPF, jednorodność wieku, płci oraz masy ciała wśród wszystkich osobników.

REFINEMENT – zmiana procedury eksperymentalnej na przysparzającą zwierzętom mniej cierpień.

Zaplanowany model eksperymentalny ogranicza cierpienie zwierząt. W niniejszym projekcie nie ma możliwości uniknięcia wielokrotnych iniekcji. Pobranie struktur mózgowych w wyniku dekapitacji znacznie poszerzy wiedzę na temat patologicznych zmian zachodzących w różnych strukturach dojrzewającego mózgu, które są konsekwencją wielokrotnego stosowania mefedronu. Test warunkowanego lęku jest powszechnie akceptowane w badaniach behawioralnych, ponadto nastawiony jest na wywołanie minimalnego cierpienia czy bólu badanym zwierzętom. W teście tym nie można podawać substancji o działaniu znieczulającym, gdyż mogłyby one negatywnie wpływać na wyniki badania.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

- A. Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy na temat mechanizmu działania mefedronu i odległych skutków jego nadużywania w okresie dorastania.
- B. Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na opracowaniu nowych strategii zwalczania poważnego problemu społecznego, jakim jest nadużywanie mefedronu przez ludzi młodych wraz ze skutkami, jakie ono niesie.

Zwierzęta przebywać będą w odpowiednich warunkach, zgodnych z wytycznymi dla tego typu doświadczeń, a stosowane procedury i czynności wykonywane będą w zgodzie z najlepszymi standardami postępowania, mającymi na celu dobrostan zwierząt, przez osoby wykwalifikowane, posiadające konieczne przeszkolenie i wieloletni staż pracy ze zwierzętami laboratoryjnymi. Zatem zapewnione będą jak najlepsze warunki życia zwierząt, jak również ich zgodne z wymogami, uśmiercanie.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną

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