

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu

Wpływ stresu na rozwój oraz przebieg padaczki w szczurzym modelu padaczki skroniowej wywołanej elektryczną stymulacją ciała migdałowatego

2. Czas trwania projektu: 60 miesięcy

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): environmental enrichment, epilepsy, epileptogenesis, electrical stimulation of the amygdala.

4. Cel projektu (art. 3 ustawy): 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.

Środowisko życia może wpływać na rozwój i przebieg padaczki. Nieodpowiednie środowisko, może doprowadzić do wysokiego poziomu stresu, skutkiem czego może być utrata masy ciała oraz wystąpienie nadaktywności i agresji. W przypadku zwierzęcych modeli padaczki wysoki poziom stresu, prowadzi do zwiększania liczby napadów padaczkowych oraz postępującego uszkodzenia neuronów. Warunki środowiskowe, w których zwierzęta są izolowane, a klatki są niewielkie i pozbawione jakichkolwiek przedmiotów wzbogacających środowisko, mogą ograniczać rozwój mózgu oraz być przyczyną

nieprawidłowych zachowań. Zwierzęta żyjące w środowisku wzbogaconym są bardziej stabilne pod względem fizjologicznym i psychologicznym, dzięki czemu wyniki badań nad rozwojem i fenotypem padaczki mogą być bardziej zbliżone do sytuacji klinicznej i obarczone mniejszymi błędami wynikającymi z nadmiernego stresu. Z tego powodu, istotna jest optymalizacja warunków życia oraz stała ocena dobrostanu zwierząt, aby warunki środowiskowe nie prowadziły do artefaktów w doświadczeniu.

Zwierzęce modele padaczki odgrywają kluczową rolę w badaniach nad padaczką. Wzbogacenie środowiska i opieka medyczna, nie tylko minimalizuje cierpienie zwierząt, ale może również poprawić jakość danych oraz przede wszystkim zmniejszyć liczbę wykorzystanych do doświadczeń zwierząt (zasada 3R).

Celem doświadczenia jest ocena wpływu środowiska życia na epileptogenezę w modelu padaczki skroniowej wywołanej elektryczną stymulacją ciała migdałowatego.

Zaplanowane przez nas procedury pozwolą zbadać czy wzbogacenie środowiska wpływa na epileptogenezę i fenotyp padaczki. Przeprowadzenie szeregu testów behawioralnych pozwoli na ocenę poziomu stresu oraz występowania zmian w zachowaniu. Ponadto, zaplanowana ocena parametrów morfologicznych oraz biochemicznych krwi pozwoli nie tylko na ocenę poziomu stresu, lecz również na ocenę stanu zdrowia.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

(*Rattus norvegicus*,) szczur laboratoryjny Sprague-Dawley – 70 osobników

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Zasada 3R została wprowadzona w oparciu o wytyczne European Animal Research Association, oraz na podstawie danych z literatury.

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

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą wiedzę objętą wnioskiem badawczym, w bazach danych: PubMed, Google Scholar, Web of Science.

Wykorzystano słowa kluczowe: environmental enrichment, epilepsy, epileptogenesis, electrical stimulation of the amygdala.

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że: U ponad 60% pacjentów cierpiących na padaczkę przyczyna rozwoju tej choroby nie jest poznana. Często przyczyną padaczki jest uszkodzenie mózgu spowodowane np. przez guzy mózgu, powypadkowe urazy mózgu, choroby neurodegeneracyjne, udar, infekcje mózgu czy drgawki gorączkowe. Bardzo często po uszkodzeniu mózgu występuje tzw. okres wolny od drgawek, które mogą się ujawnić po dłuższym czasie (miesiącach, latach). Etap występujący pomiędzy urazem a zaobserwowaniem pierwszych spontanicznych drgawek, które są symptomem padaczki, nazywamy okresem latencji (epileptogeneza). Z doniesień literaturowych wiemy, że środowisko życia wpływa na poziom stresu oraz występowanie nadaktywności i agresji. Czynniki te mogą wpływać na zwiększenie liczby napadów padaczkowych oraz postępującego uszkodzenia neuronów. Jednakże istnieje niewiele danych na temat roli wzbogacenia środowiska w procesie rozwoju padaczki. Nasze badania pozwolą na ograniczenie śmiertelności zwierząt biorących udział w doświadczeniach dotyczących padaczki, co pozwoli na zmniejszenie liczby wykorzystywanych do doświadczeń zwierząt. Ponadto, zmniejszenie stresu u zwierząt poprzez wzbogacenie środowiska życia pozytywnie wpłynie na stan ich zdrowia w doświadczeniach długoterminowych. Badania te pozwolą również zmniejszyć poziom stresu u zwierząt z indukowaną padaczką, wynikiem czego będzie zmniejszenie agresji zwierząt oraz możliwość przebywania w klatkach parami.

A. Nasze wcześniejsze badania pozwalają na stwierdzenie, że: Wzbogacenie środowiska zmniejsza poziom stresu, nadaktywność oraz agresję w zwierzęcym modelu padaczki. Ponadto przypuszczamy, że zwierzęta żyjące w środowisku wzbogaconym mogą wykazywać znacznie niższą liczbę napadów drgawkowych w porównaniu do zwierząt żyjących w środowisku standardowym. Jednak liczba zwierząt, które rozwinęły padaczkę nie pozwala na stwierdzenie istotności statystycznej.

B. Brak jest danych dotyczących wpływu wzbogacenia środowiska na padaczkę.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na: Zweryfikowanie czy wzbogacenie środowiska wpływa na próg drgawkowy, rozwój epileptogenezy oraz padaczkę. Hipoteza ta zostanie

zbadana poprzez przeprowadzenie elektrycznej stymulacji ciała migdałowatego. Są to pierwsze badania, które pozwolą zbadać wpływ wzbogacenia środowiska w procesie epileptogenezy i padaczki.

A/ Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku: Zaproponowany przez nas projekt obejmuje poszerzenie wiedzy z zakresu padaczki oraz epileptogenezy. Ponadto, projekt ten pozwoli poszerzyć wiedzę o wpływie środowiska na wyniki uzyskane w badaniach przedklinicznych.

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na: sprawdzeniu czy środowiska ma wpływ na rozwój padaczki i samą epilepsję oraz czy we wzbogaconym środowisku możliwe jest ograniczenie negatywnych skutków padaczki, takich jak zwiększony stres, drgawki, neurodegeneracja oraz zaburzenia pamięci.

Reduction (ograniczenie):

Liczba zwierząt biorących udział w doświadczeniu została obliczona na podstawie przeprowadzonego wcześniej eksperymentu i została ona ograniczona do liczby, która pozwoli nam na rzetelną analizę statystyczną oraz uzyskanie istotnych naukowo wyników.

Refinement (udoskonalenie):

Do doświadczenia został zastosowany model padaczki wywołujący stosunkowo łagodną reakcję u zwierząt doświadczalnych w porównaniu do innych, zwierzęcych modeli padaczki. Czas trwania poszczególnych etapów doświadczenia został skrócony do niezbędnego minimum. Ponadto, po wszczepieniu elektrod zwierzęta będą otrzymywać środki przeciwbólowe/przeciwzapalne w celu złagodzenia dolegliwości. Po wszczepieniu elektrod, elektrycznej stymulacji ciała migdałowatego oraz pobraniu krwi, zwierzęta pozostaną pod ścisłą opieką eksperymentatora i w razie potrzeby otrzymają niezbędną pomoc weterynaryjną.

Podczas trwania doświadczenia zwierzęta doświadczalne będą przetrzymywane we wzbogaconych warunkach oraz z uwzględnieniem minimalizacji poziomu stresu. Nieopublikowane przez nas dane wykazały, że zwierzęta przebywające we wzbogaconych warunkach, takich jak wprowadzenie co tydzień nowych zabawek i smakołyków, częsty kontakt z osobą wykonującą doświadczenie, osvajanie do pomieszczeń i aren w których są wykonywane doświadczenia, lepiej znoszą przeprowadzane zabiegi. Świadczy o tym brak reakcji stresowych u zwierząt oraz brak utraty wagi

Replacement (zastąpienie):

Zastosowanie zwierzęcego modelu padaczki w zaplanowanym przez nas doświadczeniu jest niezbędne do zbadania zmian w podatności na drgawki i epileptogenezę. Ponieważ drgawki są generowane przez mózg, nie jest możliwe zastosowanie modeli in vitro. Ponadto, zbadanie wpływu wzbogacenia środowiska życia na proces epileptogenezy nie jest możliwe bez zastosowania modeli zwierzęcych.

Tkanka zwierząt uczestniczących w doświadczeniu zostanie zbadana w celu przeprowadzenia badań histologicznych.

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.