

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Terapeutyczny efekt antybiotyku minocykliny u zróżnicowanych behawioralnie szczurów z modelem choroby Alzheimera

2. Czas trwania projektu 5 lat

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) zaburzenia depresyjne/kognitywne, choroba Alzheimera, minocyklina, psychoneuroimmunologia, szczury

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): badania podstawowe, kategoria obejmująca wiele układów: psychoneuroimmunologiczne

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 projektu jest ocena *in vivo* predyspozycji do rozwoju i efektywności terapii (wrażliwość/oporność na leczenie) zaburzeń depresyjnych i kognitywnych w szczurzym modelu sporadycznej postaci choroby Alzheimera (sAD), z użyciem antybiotyku minocykliny podawanego dootrzewnowo samcom stada niekrewniaczego szczurów Wistar (uprzednio przyzwyczajanych do eksperymentatora i sytuacji doświadczalnej), zróżnicowanych behawioralnie pod względem wrażliwości na stres (wysoko- i niskoaktywne ruchowo oraz dominujące i podporządkowane). Projekt zakłada behawioralną ocenę zaburzeń depresyjnych (poziom anhedonii, poziom lęku/niepokoju) i kognitywnych (deficyty pamięci przestrzennej) z użyciem testu: spożycia sacharozy, podniesionego labiryntu krzyżowego, wodnego Morrisa, otwartego jasno oświetlonego pola, zakopywania kulek) u swobodnie poruszających się szczurów z modelem sAD, wywołanym przez iniekcję streptozotocyny do komór

bocznych mózgu (narkoza izofluranowa), a następnie skorelowanie tych cech psychobehawioralnych z parametrami neuroimmunologicznymi, oznaczonymi w mózgu i we krwi obwodowej szczurów poddanych letalnej dawce narkozy pentobarbitalowej, od których pobrane zostaną mózgi, krew, śledziony i grasice. Równolegle zakłada się przeprowadzenie badań kontrolnych, w których szczury z każdej grupy behawioralnej zostaną poddane dootrzewnowej iniekcji fizjologicznego roztworu soli, mikroiniekcji buforu cytrynianowego. Wszystkie pozostałe czynności w grupach kontrolnych przebiegać będą wg schematu identycznego do tego, który zostanie zastosowany w grupie doświadczalnej. Pomimo, iż niektóre czynności mogą wywołać dyskomfort lub ból zwierząt, doświadczenia zostały zaplanowane w sposób, który dążyć będzie do minimalizowania cierpienia. Czynności inwazyjne będą przeprowadzane w stanie pełnej narkozy. Testy behawioralne odbywać się będą z przerwami minimum 1 dnia (w zależności od stopnia inwazyjności testu) między sobą, by jak najefektywniej zredukować stres psychospołeczny.

Spodziewanym wynikiem będzie potwierdzenie korzystnego wpływu antybiotyku w terapii zaburzeń depresyjnych i/lub zaburzeń pamięciowych towarzyszących sAD i wykazanie czy zwiększona wrażliwość na stres (wysokoaktywne ruchowo i podporządkowane) może być wczesnym markerem wystąpienia/efektywności terapii tych zaburzeń, co może przyczyni się do polepszenia jakości życia pacjentów cierpiących na chorobę Alzheimera.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

120 samców stada niekrewniaczego szczurów Wistar. Wyższa wyjściowa liczba zwierząt (ok. 120) wiąże się między innymi z koniecznością odrzucenia szczurów z medianą (w teście nowości) oraz uzyskania porównywalnej liczby zwierząt dominujących/podporządkowanych (D/S) dla poszczególnych procedur.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

REDUCTION: W ramach niniejszego badania planuje się zastosować najmniejszą liczebność zwierząt zapewniającą wiarygodność testu statystycznego dla tego rodzaju eksperymentu (1 procedura 28 szczurów, 14 zwierząt [po 7 HR/LR oraz D/S] do badań immunohistochemicznych oraz 14 zwierząt [po 7 HR/LR oraz D/S]) do badań neurochemicznych). Ponadto zaplanowane jest pobranie jak największej liczby tkanek i narządów tj. mózg, śledziona, grasic, krew obwodowa w celu wykonania kompleksowych oznaczeń z jednego osobnika.

REFINEMENT: Kierując się zasadą udoskonalenia procedur eksperymentalnych zaplanowano, że podczas

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

handlingu zwierzęta będą przystosowane do chwilowego unieruchomienia podczas iniekcji dootrzewnowych oraz mikroiniekcji domózgowych, tak aby zminimalizować odczuwany stres podczas tej czynności. Ponadto czas wykonywania poszczególnych etapów doświadczenia został zminimalizowany do niezbędnego minimum. Testy behawioralne odbywać się będą z przerwami minimum 1 dnia (w zależności od inwazyjności testu) między sobą, by jak najefektywniej zredukować stres psychospołeczny. Co więcej, podczas wykonywania każdego zabiegu operacyjnego zwierzę oprócz wziewnej narkozy, otrzymuje środek przeciwbólowy, aby zniwelować ból związany z wykonywaniem tych czynności a także premedykację z użyciem atropiny, wspomagającą pracę serca w czasie operacji stereotaktycznych oraz antybiotyk, żeby zapobiec zakażeniom pooperacyjnym. Dodatkowo, bezpośrednio przed iniekcją letalnej dawki narkozy pentobarbitalowej, w celu ograniczenia dyskomfortu zwierzęcia, szczur zostanie znieczulony za pomocą wziewnej narkozy izofluranowej.

REPLACEMENT: W badaniach niezbędne jest wykorzystanie szczurzego modelu choroby Alzheimer, z uwagi na to, że eksperyment prowadzony jest w złożonym układzie doświadczalnym (badania psychoneuroimmunologiczne) niemożliwe jest zaplanowanie badania wykorzystującego metody *in vitro*. Odpowiedź jaka zachodzi w ustroju podczas podawania substancji oraz w zaplanowanym modelu chorobowym, jest niemożliwa do odtworzenia w warunkach *in vitro* czy *in situ*, ze względu na stopień złożoności procesów neuroimmunologicznych w warunkach tej choroby. Badania *in vitro* czy *in situ*, mogą być jedynie uzupełnieniem dla wyników otrzymanych przy pomocy metody *in vivo*. W czasie trwania doświadczenia zwierzęta nie są narażone na ból i cierpienie – operacja stereotaktyczna oraz procedura iniekcji dokomorowych odbywa się w pełnej narkozie z użyciem środka przeciwbólowego. Ponadto niniejsze badania posłużą w przyszłości redukcji liczby podobnych eksperymentów na zwierzętach a wyniki będą miało praktyczne przełożenie na skuteczniejszą terapię choroby Alzheimer. Uśmiercenie zwierząt po zakończeniu doświadczenia wynika z konieczności pobrania tkanek i narządów tj. mózgu, krwi, serca, śledziony i grasicy w celu wykonania badań immunohistochemicznych, neurochemicznych i neuroimmunologicznych.