

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu

„Ocena właściwości neuroprotektoryjnych oraz wpływu na neurogenezę pochodnej kwasu 2-(2,5-dioksopirolidyno-1-ylo)-2-propanowego w pilokarpinowym modelu padaczki u myszy.”

2. Czas trwania projektu3 lata.....

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): leki przeciwpadaczkowe, pilokarpina, neurogeneza, neuroprotekcja, rezonans magnetyczny

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.

Padaczka to najczęściej spotykane schorzenie neurologiczne. Jest chorobą przewlekłą, przebiegającą w postaci napadów utraty świadomości połączonej z objawami drgawkowymi, określanymi często mianem „ataków”. Około 30% pacjentów dotkniętych jest odmianą padaczki odpornej na leczenie jednym lekiem

przeciwpadaczkowym (LPP). Wielu naukowców zarówno z dziedziny farmakologii, chemii leków jak i biologii molekularnej prowadzi szereg badań poszukując takiej substancji, która wykazywałaby właściwości przeciwdrgawkowe w wielu modelach padaczkowych, działałaby neuroprotekcynie, nie zaburzała procesu neurogenezy, a jednocześnie nie wywoływała skutków ubocznych. Biorąc pod uwagę potwierdzone już przez nasz zespół działanie przeciwdrgawkowe nowego związku, pochodnej kwasu 2-(2,5-dioksopirolidyno-1-yl)-2-propanowego (C11) w kilku modelach padaczki eksperymentalnej postanowiliśmy poszerzyć zakres badań o dodatkowy model padaczki oraz zaawansowane badania na poziomie molekularnym. Celem proponowanego projektu jest ocena jakościowa oraz ilościowa właściwości neuroprotekcyjnych oraz wpływu na proces neurogenezy hybrydy C11 oraz trzech znanych leków przeciwpadaczkowych: lakozamidu (LCM), etosuksymidu (ETS) i lewetiracetamu (LEV) w teście drgawek wywołanych dootrzewnowym podaniem pilokarpiny u myszy. Nowa hybryda C11 w swojej budowie chemicznej skupia aktywne fragmenty strukturalne LCM, ETS, i LEV. Wyniki uzyskanych badań pozwolą stwierdzić czy, i w jakim stopniu, C11 w porównaniu do znanych leków przeciwpadaczkowych wpływa na wzmożony poprzez wyładowania drgawkowe proces proliferacji komórek nerwowych oraz jakie ma to przełożenie na późniejszy proces różnicowania się komórek, czyli neurogenezę. Ponadto, wyniki uzyskane dla grupy zwierząt wolnych od pilokarpiny, pozwolą określić, czy same leki przeciwpadaczkowe wpływają na neurogenezę a także czy wykazują działanie neuroprotekcyjne.

Pozytywne wyniki (potwierdzone działanie neuroprotekcyjne, brak zaburzeń funkcji poznawczych oraz prawidłowo przebiegająca neurogeneza) z pewnością będą mogły znaleźć bezpośrednie zastosowanie w kolejnym etapie badań klinicznych zwłaszcza u młodych pacjentów, u których niezmiernie ważny jest prawidłowy rozwój funkcji poznawczych.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Myszy C57BL/6J – 200 szt.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Zamysłem proponowanego projektu jest wprowadzenie bardziej zaawansowanych technik molekularnych i ocena jakościowa oraz ilościowa neuroprotekcji oraz procesu neurogenezy po przewlekłym podawaniu hybrydy C11

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

oraz leków przeciwpadaczkowych. Przeprowadzone będą dwa główne eksperymenty: ocena ilościowa neuroprotekcji (E1) oraz ocena ilościowa neurogenezy (E2). Każdy eksperyment wykonany będzie w dwóch seriach: A- zwierzęta z wywołanymi napadami padaczkowymi oraz B-zwierzęta wolne od napadów padaczkowych. W celu znacznego zredukowania liczby zwierząt, na myszach z E2 obu serii (A i B) wykonanych zostanie kilka czynności badawczych:

1. Podawanie leków
2. Test behawioralny Basen wodny Morrisa
3. Diagnostyka obrazowa MRI

Pozwoli to na uzyskanie znaczących dla celu naukowego projektu dodatkowych wyników badań przy jednoczesnym ograniczeniu liczby zwierząt. Ponadto, wykorzystana w projekcie technika rezonansu magnetycznego MRI u zwierząt jest jedną z najnowocześniejszych metod umożliwiających przyżyciową ocenę zmian procesu neurogenezy.

Na każdym możliwym etapie prowadzenia badań zwierzęta będą otrzymywały środki znieczulające oraz przeciwbólowe, aby jak najbardziej złagodzić ból. W celu ograniczenia ostrej reakcji na pobudzające działanie pilokarpiny i zmniejszenia śmiertelności, zwierzęta otrzymają podskórnie 1 mg/kg skopolaminy 20 min przed podaniem pilokarpiny. Ponadto, przed perfuzją transkardialną zwierzęta otrzymają dootrzewnowo środek przeciwbólowy medetomidynę, w celu złagodzenia bólu podczas zabiegu operacyjnego.

Badania *in vitro* stosowane w przypadku substancji o potencjalnym działaniu przeciwdrgawkowym dostarczają jedynie informacji na temat mechanizmów ich działania w odniesieniu do receptorów, enzymów lub kanałów jonowych. Jednakże, ustalenie zarówno nowych strategii leczenia jak i działania badanych substancji na proces neurogenezy wymaga wprowadzenia eksperymentalnych modeli drgawkowych w warunkach badań *in vivo* u zwierząt. W chwili obecnej nie istnieją alternatywne sposoby poszukiwania skutecznych substancji przeciwpadaczkowych o właściwościach neuroprotektoryjnych w warunkach badań *in vitro*, bez udziału zwierząt laboratoryjnych.