

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: „Wpływ przewlekłego podawania wybranych leków przeciwpadaczkowych na poziom ekspresji wybranych genów kodujących białka regulujące działanie kanałów jonowych w mózgu u myszy.”

2. Czas trwania projektu1.10.2020 r. – 30.09.2025r.....

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) leki przeciwpadaczkowe, padaczka, ekspresja genów

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 jest ocena wpływu przewlekłego podawania wybranych leków przeciwpadaczkowych (LPP): kwasu walproinowego (VPA), karbamazepiny (CBZ), fenobarbitalu (PB), fenytoiny (PHT), lamotryginy (LTG), okskarbazepiny (OXC) i topiramatu (TPM) na poziom ekspresji wybranych genów kodujących białka regulujące działanie kanałów jonowych w mózgu u myszy.

Leczenie padaczki jest terapią długoterminową. Zatem istotne jest poznanie możliwych konsekwencji przewlekłego przyjmowania LPP, ich wpływu na funkcję OUN, przebieg choroby, własny metabolizm, a także potencjalnych interakcji z innymi lekami i substancjami. Właściwości farmakokinetyczne i farmakodynamiczne mogą się zmieniać w zależności od czasu stosowania leku. Przedłużona ekspozycja

na ksenobiotyk wywołuje w żywym organizmie zmiany adaptacyjne w obrębie miejsca działania substancji czynnej (zmiany w gęstości i wrażliwości receptorów, w syntezie wtórnych przekazników, produkcji lub eliminacji neuroprzekazników). Nasze wcześniejsze badania (dane częściowo nieopublikowane) dowiodły, że przewlekłe podawanie LPP może prowadzić do nasilenia aktywności przeciwdrgawkowej (VPA, LTG) lub rozwoju tolerancji na efekt ochronny (PB, OXC). Możliwym mechanizmem są zjawiska epigenetyczne. Przedłużona ekspozycja tkanki nerwowej na LPP może zmieniać ekspresję genów uczestniczących w regulacji procesów pobudzenia i hamowania neuronów.

W przebiegu doświadczenia planujemy, po podaniu LPP w różnych dawkach i schematach dawkowania, pobrać tkanki w celu izolacji materiału genetycznego, który posłuży do badania mechanizmów odpowiedzialnych za stwierdzone przez nas wcześniej zmiany w aktywności przeciwdrgawkowej LPP w trakcie ich przewlekłego podawania.

Uzyskane wyniki badań pozwolą określić korelację pomiędzy poziomem ekspresji badanych genów a dawką leku po podaniu jednorazowym i przewlekłym. Prowadzone w ramach projektu badania w przyszłości przyczynią się do opracowania nowych skutecznych metod leczenia padaczki.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Gatunek mysz domowa, samce, stado Swiss. Liczba zwierząt: 300.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

W procesie przygotowywania projektu badawczego sprawdzona została aktualna wiedza w zakresie objętym wnioskiem badawczym.

W bazach danych PubMed oraz Web of Science (JCR) przeszukano dane po wpisaniu następujących słów kluczowych:

antiepileptic drugs, valproic acid, carbamazepine, phenobarbital, phenytoin, lamotrigine, oxcarbazepine, topiramate, epilepsy, gene expression

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

Na podstawie przeprowadzonego przeglądu stwierdzono, że:

1. Brakuje w literaturze danych dotyczących wpływu przewlekłego stosowania LPP na poziom ekspresji wybranych genów kodujących białka regulujące działanie kanałów jonowych u myszy.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na zbadanie molekularnych mechanizmów potencjalnie odpowiedzialnych za zmiany w aktywności przeciwdrgawkowej badanych LPP stosowanych przewlekle.

Zasady zastąpienia:

Badania *in vitro* stosowane w przypadku leków przeciwpadaczkowych dostarczają jedynie informacji na temat efektów ich działania w odniesieniu do receptorów, enzymów lub kanałów jonowych bez możliwości oceny skutków behawioralnych. Ustalenie przyczyn zmian aktywności leków przeciwpadaczkowych w trakcie przewlekłej terapii wymaga skorelowania wyników uzyskanych w testach drgawkowych i badań farmakokinetycznych z potencjalnymi zmianami zachodzącymi w zakresie ekspresji genów odpowiedzialnych za aktywność drgawkową. Proces ten (w opinii autorów wniosku) możliwy jest jedynie w warunkach *in vivo*. Dotychczasowe badania prowadzono z wykorzystaniem myszy domowej. Uzasadnione wydaje się kontynuowanie projektu badawczego z zastosowaniem tego samego materiału badawczego. Tak strategia postępowania warunkuje wiarygodność uzyskanych wyników i może pozwolić na wyjaśnienie przyczyn zmiany efektywności leków przeciwpadaczkowych przy długotrwałym ich stosowaniu.

W chwili obecnej nie ma alternatywnych sposobów osiągnięcia w/w celu w warunkach badań *in vitro*, bez udziału zwierząt laboratoryjnych. Brak również szczegółowych danych w literaturze światowej, dotyczących próby wyjaśnienia zagadnienia, będącego przedmiotem niniejszego wniosku.

Zasady ograniczenia:

Grupy doświadczalne będą liczyć po 10 myszy – to najmniejsza liczba zwierząt w grupie, pozwalająca na uzyskanie wiarygodnych statystycznie wyników w poszczególnych testach w przewlekłym protokole podawania leku. W zaplanowanych badaniach, z uwagi na przewlekły protokół podawania leków i możliwe trudności z utrzymaniem liczebności grupy, grupy kontrolne oraz eksperymentalne będą się składały z 10 myszy. Końcowa grupa, od której będą pobierane tkanki, składająca się z 8 myszy jest

najmniejszą liczbą zwierząt, która pozwala na uzyskanie odpowiedniej ilości materiału genetycznego. W badaniach molekularnych genetyczna zmienność osobnicza w obrębie gatunku często jest powodem wykluczenia kolejnych próbek (osobników) z badanej grupy. Dlatego naszym zdaniem zasadne jest, aby grupa pierwotna liczyła 10 myszy. Niepełna ostateczna grupa kontrolna czy eksperymentalna może skutkować brakiem możliwości poprawnego wnioskowania statystycznego.

W celu ograniczenia liczby zwierząt w przypadku, gdy nie będzie istotnych różnic pomiędzy dawką ED₅₀1 a ED₅₀2 podawana będzie jedna z tych dawek.

Zasady udoskonalenia:

- zapewnienie najlepszych możliwych warunków zoohigienicznych w OMD,
- osvajanie zwierząt z badaczami i niektórymi czynnościami w procedurach (handling),
- procedury eksperymentalne przeprowadzać będą osoby z wieloletnim stażem pracy ze zwierzętami laboratoryjnymi, stale podnoszące swoje kompetencje w tym zakresie;
- codzienne iniekcje dootrzewnowe będą wykonywane z zachowaniem szczególnych standardów higienicznych oraz w sposób ograniczający ból i dystres zwierząt;
- podawanie substancji z zastosowaniem cienkich igieł.

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.