

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Badanie funkcji oraz lokalizacji miRNA krążących we krwi w szczurzym modelu padaczki skroniowej

2. Czas trwania projektu 5 lat.....

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) padaczka, miRNA, antagomir, krew

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) ...B.....

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 jest to grupa chorób o różnym podłożu. Około 30% pacjentów po urazie mózgu rozwija padaczkę nawet do 10 lat po urazie. Obecnie nie istnieją metody pozwalające ocenić, którzy pacjenci rozwiną padaczkę. Dlatego też istnieje duża potrzeba na znalezienie biomarkera padaczki. Pobieranie płynu mózgowo-rdzeniowego, czy tkanki mózgowej od pacjentów jest bardzo rzadkie i niesie ze sobą ogromne ryzyko.

miRNA są to małe, niekodujące RNA. Wiemy, że mogą one pełnić ważną rolę w rozwoju wielu chorób neurologicznych. Istnieją doniesienia o zmianie poziomów ekspresji miRNA w różnych modelach padaczki zwierzęcej, jak i u ludzi. Niedawno w laboratorium profesora David'a Henshall'a w Dublinie udowodniono, że domózgowe podanie związku blokującego działanie miRNA, ma efekt protekcyjny i znacząco osłabia przebieg padaczki. Niestety domózgowe podawanie jakichkolwiek terapii jest bardzo

ryzykowne i znacząco ogranicza ich zasięg. W naszym laboratorium skupiliśmy się na badaniu zmian ekspresji miRNA we krwi i uważamy, że regulowanie poziomu ekspresji miRNA we krwi może mieć efekt protekcyjny, a jednocześnie być bardzo łatwe w podaniu dożylnym.

Na chwilę obecną trudno ocenić szkody, jakie nasze doświadczenia mogą przynieść zwierzętom wykorzystywanym w doświadczeniu. Wiemy, że podanie antagomir do mózgu nie powodowało efektów ubocznych. Podanie dożylne nie było dotychczas stosowane więc nie są znane możliwe efekty uboczne. Oczywiście jeśli jakiegokolwiek negatywne efekty pojawią się w trakcie trwania doświadczenia, to zostanie ono natychmiast przerwane. Podczas trwania całego doświadczenia zwierzęta będą pod ścisłą kontrolą lekarską.

Korzyści płynące z naszych doświadczeń mogą być znaczące. Zidentyfikowanie oraz scharakteryzowanie nowych biomarkerów padaczki w postaci miRNA będzie bardzo przydatne w badaniach przedklinicznych nowych leków. Znając poziomy ekspresji poszczególnych biomarkerów możliwa będzie prosta i dokładna ocena stopnia rozwoju oraz intensywności padaczki. Dzięki temu testując nowe leki przeciwpadaczkowe w badaniach przedklinicznych w prosty i szybki sposób można będzie oceniać efekt działania leków, co może obniżyć koszty takich badań oraz skrócić czas trwania doświadczeń, co ograniczy cierpienie zwierząt. Ponadto badane przez nas miRNA są potencjalnymi celami w terapii przeciwpadaczkowej i jeśli nasze badania to potwierdzą, miRNA mogą stać się w przyszłości nowym celem terapii przeciwpadaczkowej

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniach planujemy wykorzystać 240 szczurów Sprague-Dawley.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

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

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

Wykorzystano słowa kluczowe: epilepsy, epileptogenesis, miRNA, blood, plasma.

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzamy 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). Nie wiadomo dlaczego niektórzy pacjenci rozwijają padaczkę.

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 lokalizacji miRNA o zmienionym poziomie ekspresji we krwi oraz zbadać możliwość stosowania manipulacji miRNA jako potencjalnych leków na padaczkę.

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na: sprawdzeniu, czy możliwe jest ograniczenie negatywnych skutków padaczki, takich jak zwiększony stres, drgawki, neurodegeneracja oraz zaburzenia pamięci, poprzez manipulowanie poziomami ekspresji miRNA we krwi. Dotychczasowe badania polegające na domózgowym podawaniu takich substancji są pozytywne, ale ze względu na drogę podawania związków, raczej niemożliwe do stosowania na szeroką skalę w klinice.

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 (zasada zastąpienia).

Liczba zwierząt biorących udział w doświadczeniu została obliczona na podstawie przeprowadzonego wcześniej eksperymentu i została ona ograniczona do liczby, która pozwoli nam na uzyskanie istotnych naukowo wyników (zasada ograniczenia).

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 (zasada udoskonalenia).

B. Brak jest publikowanych danych dotyczących zmian ekspresji miRNA w krwi pełnej zwierząt, oraz efektów ich regulacji.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy

X NIE

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.