

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: **Zbadanie potencjału terapeutycznego blokowania MMP-9 w mysim modelu nawrotu alkoholowego**
2. Czas trwania projektu: **5 lat**
3. Słowa kluczowe: **uzależnienie, MMP-9, mózg, mikroskopia**
4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): **A [PB3]**

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.

Cel naukowy doświadczenia: Celem doświadczenia będzie sprawdzenie, czy blokowanie aktywności metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej wpływa na zachowanie zwierząt i motywację do uzyskania substancji uzależniającej w okresie nawrotu alkoholowego. Jedną z metod blokowania będzie podanie leku Marimastatu. Inną metodą będzie podanie nanocząstek z endogennym inhibitorem. Dodatkowo planujemy zbadanie właściwości komórek, w których indukowana jest metaloproteinaza w okresie nawrotu alkoholowego.

Przewidywane szkody dla badanych zwierząt: W celu wykształcenia uzależnienia od alkoholu, myszy będą miały nieograniczony i dobrowolny dostęp do 10% alkoholu. Następnie zostanie przeprowadzony szereg testów behawioralnych podczas których dostęp do alkoholu będzie utrudniony lub całkowicie ograniczony, co może przyczynić się do powstania dyskomfortu psychicznego u uzależnionych osobników. W trakcie jednego z doświadczeń zwierzętom jest podawany lek. Procedura podania (zastrzyk) może wiązać się z dyskomfortem. W kolejnym doświadczeniu podawany jest inhibitor. Procedura podania wiąże się z przeprowadzeniem operacji chirurgicznej. W trakcie operacji zwierzęta są uśpione i znieczulone. Po wybudzeniu może im towarzyszyć dyskomfort. Końcowy etap planowanych badań stanowią analizy histologiczno-molekularne, które można

przeprowadzić jedynie *post mortem*. W tym celu zwierzęta poddane zostaną znieczuleniu ogólnemu, po którym nastąpi uśmiercenie przez dekapitację.

Potencjalne korzyści przeprowadzonych badań: Powyższe badania pozwolą na bliższe poznanie mechanizmów kierujących nawrotem alkoholowym i zachowaniami związanymi z uzależnieniem od alkoholu. W szczególności postaramy się odpowiedzieć na pytania - jak przebiega regulacja nawrotu alkoholowego? Które obszary mózgu są zaangażowane w ten proces? Wreszcie – czy możemy modulować zachowania przejęcie szlaków fizjologicznych przez substancję uzależniającą poprzez podanie nowych inhibitorów?

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniu zostanie wykorzystanych 270 myszy szczepu C57BL/6.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Powyższy projekt badawczy został przygotowany w oparciu o aktualną wiedzę literaturową, zgromadzoną w bazie danych PubMed. W gromadzeniu danych literaturowych wykorzystano następujące słowa kluczowe: addiction, alcoholism, marimastat, marimastat AND MMP-9, MMP-9 AND addiction, TIMP-1.

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury możemy stwierdzić, że brak danych wskazujących na zastosowanie leku Marimastat jako inhibitora MMP-9 w badaniach innego typu, niż stwierdzenia potencjału przeciwnowotworowego. Nie pokazano, czy lek ten może hamować MMP-9 w innych schorzeniach. Istnieją dane wskazujące, że MMP-9 odgrywa istotną rolę w uzależnieniu od alkoholu zarówno u ludzi, jak i w modelach zwierzęcych. Nie ma natomiast badań pokazujących, czy blokowanie MMP-9 modyfikuje zachowania związane z uzależnieniem od alkoholu.

Planowane przez nas badania, oprócz poszerzenia obecnej wiedzy dotyczącej mechanizmów rozwoju alkoholizmu, mogą dodatkowo przyczynić się do oszacowania potencjału terapeutycznego hamowania MMP-9 w nawrocie alkoholowym.

Proponowany projekt badawczy zakłada przeprowadzanie doświadczeń na myszach. Wybór tego rodzaju zwierząt związany jest z występowaniem u nich wysoko wyspecjalizowanego układu nerwowego, a co za tym idzie, ich zdolnością do rozwoju i utrzymania złożonego zjawiska neurologicznego jakim jest uzależnienie. Tym samym nie jest możliwe zastąpienie gryzoni niższymi kręgowcami.

Jednocześnie procedury i metody badawcze dobrano tak, aby zminimalizować stopień dyskomfortu i cierpienia wykorzystanych zwierząt. Planujemy:

- zastosować zautomatyzowane klatki typu IntelliCage, które pozwalają na badanie zachowania zwierząt w ich naturalnym środowisku, z ograniczoną do minimum ingerencją eksperymentatora;

- wykorzystać model badania alkoholizmu, w którym rozwój uzależnienia od alkoholu nie będzie powodować dystresu u zwierząt, a będzie oparty o wytworzenie pozytywnych asocjacji;
- zmniejszyć do minimum liczbę zwierząt koniecznych do przeprowadzenia doświadczenia i uzyskania istotnych statystycznie, wiarygodnych wyników, poprzez wykonywanie różnych oznaczeń i pomiarów na pobranych post mortem dwóch półkulach mózgu;
- prowadzić doświadczenie oraz uśmiercać zwierzęta przez osoby ze stażem i doświadczeniem w pracy ze zwierzętami, oraz posiadającymi odpowiednie kwalifikacje
- stosować odpowiednie leki przeciwbólowe i anestetyki podczas wykonywania jakichkolwiek operacji na zwierzętach.

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.