

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: **Rola receptora GPR39 w zaburzeniach drgawkowych**
2. Czas trwania projektu: 30 miesięcy
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): GPR39, zinc, zinc deficient diet, seizure, epilepsy
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.

Mimo, że padaczka należy do najczęstszych chorób neurologicznych, jej patofizjologia nie została do końca poznana, co przekłada się na ograniczony sukces we wprowadzaniu nowych leków przeciwpadaczkowych. Jednym z receptorów, które w świetle najnowszych badań wydają się być zaangażowane w wygaszanie napadów padaczkowych, jest receptor GPR39. Wykazano, że jest on aktywowany przez jony cynku. Celem proponowanego projektu jest kompleksowe, wieloaspektowe zbadanie roli cynku i receptora GPR39 w procesach rozwoju tej choroby. Zrealizowanie proponowanych doświadczeń może przyczynić się do wskazania nowych celów dla terapii przeciwpadaczkowej i stanowić przesłankę do poszukiwania i syntezy związków działających poprzez ten receptor jako związków o potencjalnych właściwościach przeciwdrgawkowych. Wykonanie planowanych doświadczeń może również stanowić przyczynek do badań nad rolą suplementacji cynkiem u pacjentów z padaczką. Poszukiwanie nowych strategii leczenia i/lub sposobów optymalizacji dostępnych terapii farmakologicznych jest potrzebne, ponieważ skuteczność leczenia oceniana jest na ok. 70%, co oznacza że u ok. 30% chorych występuje padaczka lekooporna.

Cel projektu (art. 3 ustawy): A. Badania podstawowe

## 6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Doświadczenia zostaną przeprowadzone na samcach myszy szczepu Swiss. Przewidywana liczba zwierząt wynosi: 1560 osobników.

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA<sup>1</sup>

Przygotowując projekt badawczy sprawdzona została istniejąca wiedza w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych PUBMED, ScienceDirect i Web of Science (JCR). Wykorzystano następujące słowa kluczowe:

GPR39, zinc, zinc deficient diet, seizure, epilepsy, convulsion, antiepileptic drugs, valproic acid, mice, rats, human

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzono, że

A. Istnieją dane wskazujące na zasadność podjęcia tematu badawczego

B. Dane wskazujące na udział receptora GPR39 w napadach drgawkowych pochodzą z badań in vitro lub badań in vivo dotyczących tylko modelu drgawek ostrych indukowanych podaniem kwasu kainowego. Nie zbadano udziału receptora GPR39 w modelach drgawek ostrych indukowanych innymi czynnikami ani też w epileptogenezie

C. Nie zbadano nowo zsyntetyzowanego agonisty tego receptora pod kątem działania przeciwdrgawkowego/ przeciwpadaczkowego

F. Brak jest systematycznych badań nad zmianami w stężeniu cynku w mózgu w przebiegu drgawek/epileptogenezy oraz podczas terapii drgawek ostrych/rozniecanych

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

- A. Określenie udziału receptora GPR39 w patofizjologii padaczki
- B. Określenie udziału receptora GPR39 w mechanizmach terapeutycznych padaczki
- C. Określenie udziału cynku w patofizjologii padaczki
- D. Określenie udziału cynku w mechanizmach terapeutycznych padaczki
- F. Poszerzenie wiedzy dotyczącej patofizjologii choroby
- G. Zaproponowanie nowych celów dla terapii przeciwdrgawkowej i przeciwpadaczkowej

Doświadczenie zostały zaplanowane z uwzględnieniem zasady 3R.

### Zasada zastąpienia:

Nie można zastosować metody badawczej zapewniającej osiągnięcie celu niniejszego projektu bez wykorzystania zwierząt doświadczalnych. W badaniach oceniających działanie związków na ośrodkowy układ nerwowy, w tym ich wpływ na proces epileptogenezy i próg drgawkowy, zastąpienie zwierząt doświadczalnych innym materiałem doświadczalnym (np. hodowlą komórkową lub tkankową) jest

<sup>1</sup> Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

niemożliwe. Dostępna literatura wskazuje, że myszy są najbardziej właściwym gatunkiem do wykonania zaplanowanych doświadczeń.

#### Zasada ograniczenia:

Liczba zwierząt zaplanowanych do doświadczeń została ograniczona do niezbędnego minimum, pozwalającego na rzetelną analizę statystyczną otrzymanych wyników. Jedynie w pierwszej procedurze badane substancje podawane będą w trzech dawkach, ze względu na brak danych literaturowych dotyczących działania agonisty receptora GPR39 i cynku w testach drgawkowych. Na jej podstawie wybrane zostaną dawki, które będą stosowane w dalszych procedurach, co znacznie ograniczy liczbę wykorzystanych w projekcie zwierząt. Próg drgawek indukowanych maksymalnym wstrząsem elektrycznym wyznaczony zostanie tzw. metodą „up and down”, która pozwoli na zredukowanie liczby zwierząt w grupie do niezbędnego minimum (20 osobników) w porównaniu do metody alternatywnej wyznaczania progu drgawkowego u zwierząt, tj. metody log-probitowej, która wymaga użycia 32–40 osobników w grupie. Wówczas, kiedy nie przyczyni się to do zmniejszenia wiarygodności wyników i wyciąganych na ich podstawie wniosków, tj. w przypadku modelu drgawek rozniecanych, planuje się najpierw przeprowadzić badania behawioralne, a następnie te same zwierzęta poddać dekapitacji z następującym po niej pobraniem mózgów, z przeznaczeniem do badań biochemicznych. Autorzy wniosku zobowiązują się do wykorzystania jak najmniejszej liczby zwierząt w planowanym doświadczeniu.

#### Zasada udoskonalenia:

Wykorzystywane zwierzęta będą przetrzymywane w warunkach odpowiednich dla swojego gatunku. Zwierzęta będą oswajane z badaczami (czynność handlingu). Przed każdym testem zwierzęta będą przechodziły 30-minutowy okres aklimatyzacji do pomieszczeń, w których przeprowadzane są doświadczenia. Wybrany model epileptogenezy (tj. model drgawek rozniecanych, indukowanych wielokrotnym podawaniem pentetrazolu) jest zdecydowanie łagodniejszy w porównaniu z innymi modelami epileptogenezy, np. z modelem drgawek rozniecanych przez stymulację ciała migdałowatego, w którym konieczne jest zastosowanie znieczulenia ogólnego celem wszczepienia elektrod, a następnie podawanie środków przeciwbólowych w okresie pooperacyjnym. Niestety ze względu na możliwość interakcji pomiędzy badaną substancją a lekami uspokajającymi i/lub przeciwbólowymi nie jest możliwe ich podanie. Stosowane będzie jednak znieczulenie miejscowe w przypadku testów drgawkowych, w których drgawki indukowane są bodźcem elektrycznym. Wszystkie czynności prowadzone będą przez przeszkolonych wykonawców, posiadających wieloletnie doświadczenie w pracy ze zwierzętami. Zwierzęta będą znajdowały się pod stałą kontrolą lekarza weterynarii. Po zakończeniu procedur zwierzęta zostaną natychmiast poddane eutanazji lub dekapitacji.