

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu : Wpływ drgawek w szczurzym modelu drgawek wywołanych dootrzewnową iniekcją PTZ, na zmiany poziomu białka MBD3 (methyl-CpG binding domain 3) i mikro RNA

2. Czas trwania projektu ....48 miesięcy.....

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) ..MBD3, miRNA, epilepsy, epileptogenesis, PTZ test...

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 jest chorobą neurologiczną która dotyka ok 50 milionów ludzi na całym świecie. 30% z nich cierpi na padaczkę lekooporną. W ostatnich latach poszukuje się czynników (biomarkerów) które mogłyby być stosowane we wcześniejszej diagnostyce choroby, przynosząc większe korzyści terapeutyczne i ograniczając działania niepożądane. Doświadczenia przeprowadzane z użyciem zwierzęcego modelu padaczki skroniowej wywołanej elektryczną stymulacją ciała migdałowatego, w celu poszukiwania biomarkerów padaczki we krwi i osoczu wykazały, że poziom licznych miRNA ulega zmianie po stymulacji elektrycznej ciała migdałowatego, podczas rozwoju padaczki, oraz po wystąpieniu spontanicznych drgawek, czyli diagnozie padaczki. W zaplanowanym doświadczeniu chcemy sprawdzić, czy zmiany miRNA u zwierząt ze zdiagnozowaną padaczką są efektem choroby niezależnym od doświadczanych przez zwierząt drgawek, czy też są efektem samych spontanicznych drgawek. Rozróżnienie to jest bardzo istotne, ponieważ poszukując biomarkerów padaczki, chcemy uniknąć tych miRNA, których zmiany poziomów są przejściowe i generowane jedynie przez okazjonalnie pojawiające się drgawki.

Z literatury wiemy również, że istnieją dane wskazujące na potencjalną rolę mechanizmów epigenetycznych w padaczce, niemniej ich rola nie jest dobrze poznana. Wiadomo, że w modelach doświadczalnych i u pacjentów z padaczką dochodzi do zmian w ścieżkach metabolicznych zaangażowanych w regulację metylacji DNA oraz na poziomie metylacji DNA. Z naszych badań wynika, że białko MBD3 (methyl-CpG binding domain 3), które bierze udział w metylacji DNA, wzrasta w określonych rejonach mózgu zwierząt padaczkowych. Wynik ten wskazuje na udział badanego białka w epileptogenezie lub padaczce. W doświadczeniu kolejnym, niezależnym celem będzie sprawdzenie, czy poziom białka MBD3, wzrasta również w wyniku drgawek wywołanych u zwierząt zdrowych. Ma to na celu rozróżnienie wpływu choroby od wpływu drgawek na poziom MBD3 w mózgu.

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

szczur laboratoryjny (*Rattus norvegicus*) Sprague-Dawley – 176 osobniki

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

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

Wykorzystano słowa kluczowe: MBD3, miRNA, epilepsy, epileptogenesis, PTZ test.

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że: Leczenie choroby czy też innego rodzaju schorzeń powinno przynosić maksymalne korzyści terapeutyczne przy minimalnych działaniach niepożądanych. Aby osiągnąć ten cel w przypadku padaczki, badacze poszukują biomarkerów które mogą posłużyć do przewidywania odpowiedzi na leczenie choroby. Jednym z takich biomarkerów mogą być miRNA izolowane z krwi. Z doniesień literaturowych wiemy również, że w procesie rozwoju padaczki biorą udział mechanizmy epigenetyczne, związane z metylacją DNA. Badane przez nas białko MBD3 bierze udział w odczytywaniu wzoru metylacji DNA. Stwierdzono, że ulega ono ekspresji w trakcie rozwoju osobniczego, natomiast nie jest znana jego funkcja w patologii mózgu.

A. Nasze wcześniejsze badania pozwalają na stwierdzenie, że: Nasze doświadczenia przeprowadzane na zwierzęcym modelu padaczki skroniowej wywołanej elektryczną stymulacją ciała migdałowatego przeprowadzone w celu poszukiwania biomarkerów padaczki wykazały, że poziom określonych miRNA ulega zmianie po stymulacji elektrycznej ciała migdałowatego, a także oscyluje po wystąpieniu drgawki. Natomiast poziom białka MBD3 wzrasta w korze śródwęchowej, gruszkowatej oraz ciełe migdałowatym, w zwierzęcym modelu padaczki skroniowej. Stwierdzono, że białko MBD3 wiąże się do innych regionów DNA w mózgu zwierząt epileptycznych w porównaniu do kontrolnych.

---

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

B. Brak jest danych dotyczących: roli mechanizmów epigenetycznych w epileptogenezie i epilepsji oraz biomarkerów krwi które mogłyby być wykorzystywane we wczesnej diagnozie padaczki bądź drgawek.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na: określenie podstawowego poziomu białka MBD3 oraz wybranych miRNA w określonych rejonach mózgu. Uzyskane dane pozwolą również na zweryfikowanie czy w zwierzęcym modelu drgawki zachodzą zmiany w poziomie aktywności białka MBD3 oraz czy zmiany w wybranych miRNA są zależne od drgawek i mogą być potencjalnymi biomarkerami drgawki.

A/ Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku: Nasze badania są częścią nauk podstawowych z zakresu neurobiologii, badań układu nerwowego i mogą w przyszłości zostać użyte w opracowywaniu terapii epilepsji bazującej na biomarkerach padaczki. Przypuszczamy, że jednym z nich może być białko MBD3, które bierze udział w odczytywaniu metylacji DNA oraz określone miRNA, które ulegają zmianie po wystąpieniu padaczki oraz oscylują wokół drgawek.

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na: zbadaniu zmian w poziomie białka MBD3 i wybranych miRNA jako potencjalnych markerów drgawki, po wywołaniu drgawki (iniekcją dootrzewnową PTZ) oraz określenie ich podstawowego poziomu w określonych rejonach mózgu.

Zasada zastąpienia: Z użyciem zwierząt zostaną przeprowadzone tylko te doświadczenia których nie da się wykonać metodą *in vitro*, ponieważ ich celem jest m.in. zbadanie funkcji mózgu. Tkanka zwierząt (mózg oraz krew) uczestniczących w doświadczeniu zostanie zbadana w celu oceny zmian w poziomie aktywności promotora białka MBD3 oraz zmian w poziomie określonych miRNA.

Zasada ograniczenia: Na początku doświadczenia przeprowadzimy optymalizację dawki PTZ potrzebnej do wywołania drgawek u zwierząt. Dzięki niej ograniczymy śmiertelność zwierząt w procedurze głównej. Natomiast liczba zwierząt biorących udział w doświadczeniu została ograniczona do liczby, która pozwoli nam na uzyskanie istotnych naukowo wyników.

Zasada udoskonalenia: Podczas doświadczenia zwierzęta trzymane we wzbogaconym środowisku oraz zostaną oswojone przez okres 2-3 tygodni do pomieszczenia w którym będą przechowywane, w którym będzie wykonywane test PTZ oraz z osobami przeprowadzającymi doświadczenie. Nieopublikowane przez nas dane wykazały, że zwierzęta przebywające we wzbogaconych warunkach lepiej znoszą przeprowadzane procedury, o czym może świadczyć brak reakcji stresowych oraz utraty wagi. Aby uniknąć zwiększonego poziomu stresu zwierzęta z których będzie pobierana krew do badań zostaną umieszczone pod anestezją na czas pobierania krwi.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną<sup>2</sup>

☒ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy

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

☐ NIE

---

<sup>2</sup> Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.