

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1.Tytuł projektu: Wpływ małej dawki kynureniny podawanej drogą pokarmową w okresie żywienia mlekiem matki na procesy pamięci młodych i dorosłych szczurów

2.Czas trwania projektu: od 1.12. 2020 r. do 31.12. 2024 r.

3.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): kynurenina, tryptofan, pamięć, szczury

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.

Kynurenina (KYN) jest metabolitem tryptofanu w szlaku kynureninowym. Chociaż jest produkowana i stale obecna w naszym organizmie, wiedza na jej temat jest ograniczona. Nie ma danych, czy suplementacja KYN, która jest obecna w produktach mlekozastępczych dla dzieci jest bezpieczna i w jakich dawkach. Wykazano, że podawanie KYN w paszy samicom w okresie ciąży i karmienia młodych powoduje zaburzenia pamięci i zmiany w zachowaniu ich potomstwa w okresie dorosłości przypominające objawy schizofrenii. Ponadto, metabolity tryptofanu, w tym KYN działające na receptor aryłowęgłowodowy (AhR) mogą odgrywać również rolę w patogenezie zespołu metabolicznego. Szlak kynureninowy jest także ważny w regulacji przyrostu masy ciała i otyłości.

Obecny wniosek jest kontynuacją wcześniejszych badań, w których KYN po raz pierwszy była

podawana zwierzętom dożołądkowo, podobne badania nie były dotychczas przeprowadzone. Celem obecnego doświadczenia jest rozszerzenie wcześniejszych badań przez podanie KYN szczurom w dawce dziesięciokrotnie mniejszej. Następnie na zwierzętach zostaną przeprowadzone testy behawioralne i pobrane struktury mózgu celem określenia czy zmniejszona dawka KYN powoduje zmiany zawartości metabolitów szlaku kynureninowego w organizmie.

Uzyskanie danych z przeprowadzonego doświadczenia pozwoli na rozwinięcie wiedzy nt. wpływu bezpośredniego podania KYN drogą pokarmową na zachowanie dorastających i dorosłych szczurów. Ponadto, uzyskane wyniki mogą zaowocować sugestią potrzeby zweryfikowania składu produktów mlekozastępczych przeznaczonych do żywienia noworodków i niemowląt oraz wskazań dietetycznych. Wydaje się więc, że korzyści uzyskane z przeprowadzonego doświadczenia przewyższają ewentualne szkody poniesione przez zwierzęta. W przypadku wystąpienia objawów niepożądanych w trakcie doświadczenia podjęte będą zabiegi zgodnie z zasadami wcześniejszego, humanitarnego zakończenia procedury.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniu zostaną wykorzystane ciężarne samice szczurów wędrownych szczepu Wistar – 15 samic oraz ich potomstwo obu płci – 120 szczurów.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: EBSCO; PUBMED; Google Scholar; AGRICOLA; ScienceDirect; Web of Science (JCR).

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że zgromadzone dane literaturowe są niewystarczające i uzasadniają zaplanowane doświadczenie.

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że: kynurenina podawana w paszy

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

samicom w okresie ciąży i karmienia młodych powoduje zaburzenia pamięci i zmiany w zachowaniu ich potomstwa w okresie dorosłości przypominające objawy schizofrenii. Ponadto, podwyższony poziom kwasu kynureninowego, który jest bezpośrednim metabolitem kynureniny, odnotowano pośmiertnie w mózgach osób chorujących na schizofrenię sugerując istotne znaczenie szlaku kynureninowego w patofizjologii tej choroby u ludzi.

B. Brak jest danych dotyczących: podawania kynureniny bezpośrednio oseskom w okresie dorastania oraz jej wpływu na zachowanie dorastających i dorosłych zwierząt.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli odpowiedzieć na pytania czy 1) czy podanie zmniejszonej dawki kynureniny drogą pokarmową będzie miało wpływ na poziom metabolitów szlaku kynureninowego 2) czy podanie kynureniny w zmniejszonej dawce będzie miało wpływ na zachowanie młodych i dorosłych zwierząt?

A. Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku poznania wpływu bezpośredniego podania kynureniny na zachowanie dorastających i dorosłych zwierząt.

B. Zastosowanie uzyskanej wiedzy może zaowocować sugestią o potrzebie zweryfikowania składu produktów mlekozastępczych i wskazań dietetycznych dla małych dzieci.

Przygotowując projekt badawczy zastosowałam zasadę 3R:

REPLACEMENT - *zastąpienie doświadczeń na zwierzętach metodami in vitro (hodowle komórkowe, tkankowe), zastąpienie zwierzętami o niższym stopniu rozwoju ewolucyjnego;*

Ze względu na zaplanowane testy behawioralne niemożliwe jest zbadanie wpływu kynureniny podawanej drogą pokarmową w okresie żywienia mlekiem matki na rozwój i zachowanie młodych i dorosłych szczurów za pomocą techniki in vitro. Niewskazane jest także zastąpienie szczurów wędrownych zwierzętami o niższym stopniu rozwoju ewolucyjnego, z tego względu, że doświadczenia te nie dostarczą wyników tak wiarygodnych jak te, które przeprowadzone są na szczurach i które będzie można odnieść do problemów klinicznych obserwowanych u ludzi. Badania te mogą przyczynić się do zweryfikowania składu produktów mlekozastępczych przeznaczonych do żywienia noworodków i niemowląt oraz wskazań dietetycznych.

REDUCTION - *zmniejszenie liczby zwierząt poprzez lepsze wykorzystanie metod statystycznych.*

W badaniach zaplanowano najmniejszą liczbę zwierząt (potomstwo 15 ciężarnych matek szczurzych) pozwalającą na uzyskanie wiarygodnych wyników behawioralnych, stwarzających możliwość analizy statystycznej. Jest to liczba zwierząt w grupie, ustalona zgodnie z wymogami stawianymi przez zasadę 3R, która jednocześnie pozwala na uzyskanie wiarygodnych, powtarzalnych, dających się opracować statystycznie wyników (analiza wariancji jedno-i dwuskładnikowa ANOVA oraz testu post-hoc Tukey'a). Przyjęto, że liczebność jednego miotu szczura wędrownego to 6 -12 osobników (średnio 10 osobników), w związku z tym, aby uzyskać liczbę osesków niezbędną do przeprowadzenia doświadczenia (12 grup x 10=120) potrzebnych jest 15 ciężarnych samic.

Przy określeniu ilości zwierząt oraz grup biorących udział w eksperymentach wykorzystano informacje zawarte na stronie: <http://biomath.info/power/index.htm>. Minimalizacja liczby zwierząt w grupie doświadczalnej była możliwa również dzięki ograniczeniu zmienności wśród zwierząt poprzez stały mikroklimat w Zwierzętarni podczas doświadczenia, jednorodność wieku, płci oraz masy ciała wśród wszystkich osobników. Dodatkowo środowisko, w którym będą przebywały szczury, zostanie wzbogacone o tunele oraz klocki drewniane w celu poprawy dobrostanu zwierząt.

REFINEMENT – *zmiana procedury eksperymentalnej na przysparzającą zwierzętom mniej cierpień*

Zaplanowane modele eksperymentalne ograniczają cierpienie zwierząt. W przypadku wystąpienia objawów niepożądanych w trakcie doświadczenia (duszności, drgawki, niezdolność ruchowa) podjęte będą zabiegi zgodnie z zasadami wcześniejszego, humanitarnego zakończenia procedury. Zwierzęta zostaną uśmiercone poprzez dekapitację, a następnie materiał biologiczny zostanie pobrany do dalszych badań biochemicznych. W niniejszym projekcie nie ma możliwości uniknięcia wielokrotnych podań dożołądkowych (KYN będzie podawana jeden raz dziennie w okresie 2-21 dzień życia), które poszerzą wiedzę m.in. nt. wpływu wielokrotnego podawania produktów mlekozastępczych zawierających duże ilości KYN na rozwój fizyczny i psychoruchowy dzieci.

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.

