

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1.Tytuł projektu: Reakcja behawioralna i fizjologiczna na ekspozycję na TMT u szczurów laboratoryjnych

2.Czas trwania projektu: 01.05.2019 - 01.10.2019

3.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) stres, kortykosteroidy, szczur, reakcja lękowa, c-Fos

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.

Wiele gatunków zwierząt wykazuje specyficzne adaptacje, które umożliwiają rozpoznawanie, unikanie i obronę przed drapieżnikami. W przypadku większości ssaków, w tym szczurów, adaptacje te dotyczą wrażliwości na zapachy pochodzące od drapieżników. Typowymi źródłami takich zapachów są skóra drapieżnika i futro, mocz, kał i wydzielina gruczołu odbytu. Badania nad reakcją na zapach drapieżników są istotne ze względu na wartość takich danych do opracowania modeli zaburzeń lękowych, a także projektowanie skutecznych środków odstraszających szkodniki.

Istnieje szereg zalet stosowania zapachu drapieżnika w badaniach. Są to m.in.: możliwość standaryzacji bodźca, naturalność bodźca – *ergo* duża wartość adaptacyjna reakcji, wrodzony lęk (brak konieczności wcześniejszego warunkowania), sygnalizacja bez stwarzania realnego zagrożenia i bólu, obfita literatura).

W planowanym badaniu jako stresor wykorzystane zostanie TMT (wydzielina z gruczołu okołoodbytoowego lisa). Podczas sesji eksperymentalnej zwierzę będzie miało kontakt z TMT umieszczonym w jednej ze znajdujących się w boksie doświadczalnym fiolek. Oprócz wskaźników

behawioralnych (czas interakcji, szybkość lokomocji etc.) zbadane zostaną też wskaźniki fizjologiczne. U części badanych zwierząt zmierzony zostanie poziom kortykosteroidów w osoczu krwi oraz ekspresja c-Fos w tkance mózgowej, u drugiej zaś części poziom kortykosteroidów w kale. Celem pomiaru wskaźników hormonalnych jest próba określenia fizjologicznych korelatów zachowania w odpowiedzi na stresor. Celem zastosowania dwóch niezależnych pomiarów kortykosteroidów (w kale vs w osoczu krwi) jest zaś zarówno walidacja pomiaru jak i próba zbadania korelacji poziomów pomiędzy dwoma źródłami próbek. Dodatkowo zostanie przeprowadzona analiza ekspresji białek c-Fos w tkance mózgowej. Znaczne różnice międzyszczepowe skłaniają do użycia dwóch różnych stad niekrewniaczych szczurów (Lister Hooded i Long Evans), co dodatkowo (oprócz poprawy rzetelności wyników) dostarczy danych dotyczących różnic fizjologicznych między stadami niekrewniaczymi.

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

*Rattus norvegicus* (szczur wędrowny)

Stada niekrewniacze: Lister Hooded i Long Evans

liczba: 64 osobniki

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

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych:

EBSCO; PUBMED; Google Scholar; ScienceDirect; Web of Science (JCR);

Wykorzystałem słowa kluczowe:

Predator odor/odour/scent, TMT, rats, laboratory rats, fear, stress, cortycosteroids, c-Fos

**Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że:**

**A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że:**

Reakcja na zapach drapieżnika jest istotnym obszarem badawczym w wielu dziedzinach nauki. Podczas gdy etolodzy są zainteresowani wewnętrzną naturą interakcji drapieżnik-ofiara, psychologowie i psychiatrzy coraz częściej traktują reakcje obronne wywołane przez drapieżniki jako potencjalnie użyteczny model ludzkich zaburzeń emocjonalnych, badacze zajmujący się neuronauką i endokrynologią coraz częściej widzą reakcję na zapach drapieżników jako przydatne narzędzia w zdobywaniu podstawowych informacji o tym, jak mózg i układ hormonalny ssaków reagują w przypadku ostrego lub przewlekłego stresu.

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

Istnieje szereg zalet stosowania zapachu drapieżnika w badaniach. Są to m.in.: możliwość standaryzacji bodźca, naturalność bodźca – ergo duża wartość adaptacyjna reakcji, wrodzony lęk (brak konieczności wcześniejszego warunkowania), sygnalizacja bez stwarzania realnego zagrożenia i bólu, obfita literatura).

Jednym z najskuteczniejszych bodźców zapachowych wywołujących wrodzoną reakcję lękową jest planowany do wykorzystania w proponowanym badaniu TMT (trimetylotiazol - wydzielina z gruczołu okołoodbytoowego lisa).

Istnieje szereg badań nad ekspresją białek c-Fos w reakcji na zapach drapieżnika. Wiedza na ten temat jest jednak ograniczona - m.in. w obszarze regulacji zachowania i zależności c-Fos i układu hormonalnego.

Badanie poziomu hormonów w kale jest najmniej inwazyjną metodą pomiaru. Dodatkowo niektóre dane wskazują, że wahania dobowe wydzielin hormonów w kale są znacznie mniejsze niż w osoczu krwi.

### **B. Brak jest danych dotyczących:**

W literaturze brakuje rzetelnych wyników porównań inwazyjnych i nieinwazyjnych metod pomiaru poziomu reakcji fizjologicznej na stres – w szczególności brak procedur zapewniających uzyskiwanie porównywalnych wyników. Bardzo istotne jest zatem przeprowadzenie badań porównawczych na możliwie reprezentatywnej grupie szczurów laboratoryjnych (stada niekrewniacze).

### **Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:**

A/ Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku standaryzacji i walidacji metod pomiaru reakcji fizjologicznej na stres u szczurów laboratoryjnych. Wyniki te będą mogły być z pewnymi zastrzeżeniami ekstrapolowane na przedstawicieli innych gatunków zwierząt z gromady ssaków, a więc i ludzi.

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy, polegające na zastąpieniu inwazyjnych metod pomiaru reakcji fizjologicznej na stres (pomiar poziomu kortykosteroidów w osoczu krwi i ekspresja białek c-Fos metodami całkowicie bezinwazyjnymi, poprawi zarówno dobrostan badanych zwierząt, jak i zminimalizuje ryzyko wpływu pomiaru fizjologicznych wskaźników stresu na zachowania badanych zwierząt, wpłynie więc także korzystanie na rzetelność wyników uzyskiwanych w badaniach behawioralnych.

### **Ograniczenie**

Liczba zwierząt została ograniczona do minimum niezbędnego do osiągnięcia celu na podstawie odpowiednich testów statystycznych zgodnie z zaleceniami dotyczącymi badań behawioralnych i neurobiologicznych ; Guidelines for the Care and Use of Mammals in Neuroscience and Behavioral Research, Appendix A, <http://www.nap.edu/catalog/10732.html>).

### **Zastąpienie**

Nie istnieje możliwość przeprowadzenia tego badania bez udziału zwierząt. Zaplanowany gatunek zapewnia jednocześnie względnie wysoką porównywalność uzyskiwanych wyników z mechanizmami występującymi u innych ssaków w tym ludzi ze względu na przynależność do tej samej grupy systematycznej.

Charakterystyka behawioralna szczurów uzyskana na podstawie zaplanowanych badań może stać się podstawą do ograniczenia eksperymentów, które obecnie są prowadzone z użyciem zwierząt.

### **Doskonalenie**

Stres w eksperymencie został ograniczony do możliwego minimum poprzez sesje habituacyjne, podczas których zwierzę oswaja się z przestrzenią doświadczalną. Stres został także ograniczony poprzez zastosowanie narkozy przed dokonaniem dekapitacji. Połowa zwierząt użytych w badaniu zostanie użyta w dalszej hodowli. Zaplanowana metoda nie wymaga długotrwałego treningu wstępnego, nie wykorzystuje bodźców bólowych oraz nie wymaga deprywacji pokarmowej stosowanej w przypadku motywowania gryzoni za pomocą pokarmu.

Badanie może przyczynić się do udoskonalenia nieinwazyjnych sposobów pomiaru poziomu kortykosteroidów (zastąpienie inwazyjnych metod metodami nieinwazyjnymi), a zatem do ułatwienia przeprowadzania tego typu pomiarów i minimalizacji cierpienia zwierząt doświadczalnych.

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.