

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu

Wpływ selektywnej delecji podjednostki gamma 2 receptora GABA A w neuronach dopaminergicznych na zachowania związane z impulsywnością

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

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): dopamina, impulsywność, receptory GABA_A

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.

Celem doświadczenia jest pokazanie wpływu zaburzenia hamowania aktywności neuronów dopaminowych w brzuszny mózgowiu na zachowania impulsywne. W doświadczeniach wykorzystamy szczep genetycznie modyfikowanych myszy (*Gabrag2^{DATCreERT2}*), w którym u dorosłych zwierząt indukowana jest wybiórczo w neuronach dopaminowych delecja jednego z genów ważnych dla powstawania receptorów odpowiedzialnych za hamowanie aktywności neuronów. U zwierząt z mutacją zbadamy dwa rodzaje zachowań impulsywnych: niezdolność powstrzymania się od reakcji na bodziec (test Go/NoGo) oraz niezdolność oczekiwania na odsuniętą w czasie nagrodę. Jeśli mutacja nasili zachowania impulsywne, wskaże to na neuronalny mechanizm, który może odpowiadać za rozwój

psychopatologii związanych z zaburzoną kontrolą impulsów.

Zaplanowane doświadczenia należą do kategorii dotkliwości łagodnej i umiarkowanej. Mutacja nie powoduje zauważalnego upośledzenia zwierząt. W jednej z procedur zaplanowane jest ograniczenie dostępu do pożywienia, tak aby zmniejszyć wagę o 10-15%. Podobne ograniczenie we wcześniejszych doświadczeniach nie powodowało zauważalnego pogorszenia zdrowia.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W planowanych doświadczeniach wykorzystanych zostanie maksymalnie 112 myszy (*Mus musculus* L.), samic i samców szczepu *Gabrag2^{DATCreERT2}*. U zwierząt *Gabrag2^{DATCreERT2}* mutacja jest indukowana za pomocą podań tamoksifenu. Przed indukcją mutacja jest nieaktywna i nie ma wpływu na rozwój zwierząt. Wstępne wyniki pokazują, że indukcja mutacji prowadzi do zmian w zachowaniu objawiających się zwiększoną aktywnością ruchową.

Wielkość grup zwierząt jest wystarczająca aby zaobserwować z 75% pewnością zmiany w zachowaniu zbliżone do obserwowanych we wcześniejszych doświadczeniach. Podane we wniosku liczby zwierząt są wartościami maksymalnymi i przewidują ewentualną konieczność powtórzenia doświadczeń, w których zaobserwowane zostaną znamienne efekty mutacji.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Plan doświadczeń przygotowany został wspólnie z dr. Davidem Engblomem z Uniwersytetu w Linköping i oparty jest głównie o wcześniejsze wyniki własnych doświadczeń. Zaobserwowaliśmy, że u zwierząt z funkcjonalnie przeciwną mutacją, usunięciem genu kluczowego dla powstawania receptorów glutaminianu typu NMDA (*NR1^{DATCreERT2}*), następuje spowolnienie reakcji na bodźce i wydłużenie czasu podejmowania decyzji. Spodziewamy się, że zaplanowane w projekcie doświadczenia pokażą odwrotny fenotyp u myszy *Gabrag2^{DATCreERT2}*, co pozwoli jednoznacznie wskazać mechanizm wpływający na

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

impulsywność.

Literatura dotycząca neuronalnego podłoża impulsywności jest bardzo obszerna. Doniesienia opisujące aktywność mózgu podczas podejmowania impulsywnych decyzji potwierdzają zaangażowanie układu dopaminowego. Dobrze opisany jest również wpływ leków działających na receptory dopaminy na impulsywność u ludzi i w modelach zwierzęcych. W kontekście opublikowanych już badań, zaplanowane doświadczenia są próbą pokazania fizjologicznego mechanizmu, poprzez który układ dopaminowy odpowiada za zwiększenie lub zmniejszenie impulsywności.

ZASTOSOWANIE ZASADY 3R

1. Udoskonalenie.

Osoby Warunki bytowania zwierząt będą ściśle kontrolowane. Zwierzęta będą przebywać w klimatyzowanych pomieszczeniach. Kontakt ze zwierzętami będą miały wyłącznie osoby prowadzące doświadczenie. Samce będą umieszczone w klatkach w grupach po 3 lub 4 zwierzęta, nie będą izolowane. Samice będą przebywać przez pierwszy tydzień w podobnych warunkach, po czym zostaną połączone w jedną grupę w klatce Intellicage, która ma wzbogacone środowisko. Stan klatek będzie kontrolowany codziennie, ale o ile będzie to możliwe ściółka będzie zmieniana *nie* częściej niż raz w tygodniu; częste zmiany ściółki są dla zwierząt stresujące i w przypadku samców powodują walki o dominację.

2. Ograniczenie.

Badania nad drugą kohortą zwierząt (połowa zwierząt przewidzianych w procedurach 1 i 2) przeprowadzone zostaną pod warunkiem zaistnienia konieczności potwierdzenia wyników z pierwszej kohorty. Jeśli pierwszy etap badań da jednoznacznie negatywne wyniki lub wskaże na zmiany w zachowaniu uniemożliwiające interpretację wyników, drugi etap nie zostanie przeprowadzony.

W procedurach doświadczeń przewidziana jest rejestracja wszystkich zachowań zwierząt, co eliminuje

ewentualną konieczność powtórzenia doświadczeń w celu obserwacji parametrów zachowań innych niż początkowo uwzględnionych w planach doświadczenia. Polega to na rejestracji wszystkich zdarzeń (sygnałów wysyłanych przez fotokomórki, czujniki temperatury, czytniki RFID itp), bez uśredniania lub sumowania albo innych wstępnych analiz na poziomie procedury. Zaplanowane licznosci grup zwierząt w zaplanowanych doświadczeniach są oparte o wyliczenia możliwości zaobserwowania statystycznie znamiennych zmian w zachowaniu.

3. Zastąpienie.

Zastąpienie zwierząt Fto-fl;Adora2a-Cre.B6Crl z selektywną mutacją genu Fto nie jest możliwe. Metody *in silico* nie pozwalają na modelowanie złożonych zachowań.