

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Rola ceramidu w patogenezie depresji.

2. Czas trwania projektu 3 miesiące

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów):

Depresja, kwaśna sfingomielinaza, ceramid, zwierzęcy model depresji

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.

Depresja jest chorobą psychiczną o złożonej i nie do końca poznanej etiologii. Najnowsze badania przedkliniczne i kliniczne wskazują na znaczenie stresu oksydacyjnego oraz ceramidu w patogenezie depresji. Hipoteza o znaczeniu ceramidu w patogenezie depresji została częściowo potwierdzona w nielicznych badaniach klinicznych i przedklinicznych w których wykazano udział kwaśnej sfingomielinazy (enzymu zwiększającego stężenie ceramidu) w mechanizmie działania wielopierścieniowych leków przeciwdepresyjnych oraz polimorfizm tego enzymu u depresyjnych pacjentów. Nieznane są zmiany innych szlaków syntezy i metabolizmu ceramidu w zwierzęcych modelach depresji. Celem projektu jest ocena poziomu ceramidu w mózgu zwierząt pozbawionych opuszek węchowych (model depresji nabytej).

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

24 szczury (2 grupy po 12 osobników), samce szczepu Wistar Han (dostawca Charles River, Niemcy)

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

Sposób realizacji zasady 3R

### 1. Udoskonalenie

#### Zwierzęta

- Wykorzystywane zwierzęta (szczury) są utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku.
- Jednopłciowe grupy badawcze (samce) pozwolą na uniknięcie rywalizacji samców o samice oraz zredukowanie ilości zmiennych (takich jak płeć) na możliwy rozrzut otrzymanych wyników.
- Zastosowanie właściwej diety; zwierzęta będą karmione certyfikowaną paszą bytową.
- Od pierwszego dnia procedury zwierzęta będą przetrzymywane w klatkach o powierzchni 1815 cm<sup>2</sup>/18 cm wysokości (T4) po 5 osobników, natomiast w okresie rekonwalescencji oraz w czasie prowadzenia doświadczeń pojedynczo w klatkach o wymiarach 825 cm<sup>2</sup>/18 cm (T3) na ściółce niepalnej z małą zawartością żywic.
- Stały kontakt i pomoc ze strony lekarza weterynarii pozwoli na zapewnienie odpowiednich warunków bytowych.

#### Pomieszczenie bytowe

- Zwierzęta będą przebywały w pomieszczeniu bytowym służącym tylko do tego celu; w pomieszczeniu nie będą wykonywane pozostałe czynności (tj. iniekcje, eksperyment, uśmiercanie).
- Pomieszczenie bytowe będzie oddzielone od pozostałych pomieszczeń co pozwoli na redukcję hałasu. Pomieszczenie to jest wyposażone w stały system monitorowania temperatury i wilgotności.
- Codzienna kontrola stanu zwierząt oraz wymiana ściółki (2 razy w tygodniu) pozwolą na szybkie zidentyfikowanie wszystkich chorych lub okaleczonych zwierząt i podjęcie odpowiednich działań oraz zapewnienie higieny- Pomieszczenie odizolowane jest od części eksperymentalnej co pozwoli na ograniczenie prawdopodobieństwa narażenia na czynniki stresogenne.

#### Pomieszczenia eksperymentalne i przygotowań do eksperymentów

- Zaplanowane czynności (tj. iniekcje badanych substancji, anestezja, implantacja kateteru) będą wykonane w tzw. pokoju przygotowań.
- Po zabiegu implantacji zwierzęta zostaną umieszczone w cichym i ciepłym miejscu, w klatce z możliwością swobodnego ruchu aż do całkowitego wybudzenia.

#### Metoda

- Zastosowane metody badawcze zostały wybrane tak aby ograniczyć do minimum albo eliminować ból, cierpienie.
- Opracowane instrukcje postępowania zapewnią ich regularny i powtarzalny sposób wykonania co ograniczy stres zwierząt.
- Wszystkie czynności będą wykonywane przez znanego zwierzętom i doświadczanego eksperymentatora lub osobę uczestniczącą.

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

- Przed operacją zwierzęta zostaną poddane anestezji z wykorzystaniem środka pozwalającego na iniekcję niewielkiej ilości płynu. Oczy poddanych anestezji szczurów zostaną zabezpieczone przed wysuszeniem poprzez aplikację sztucznych łez.

- Podawane zwierzętom w trakcie doświadczenia roztwory będą miały temperaturę zbliżoną do temperatury szczurów

co zapewni uniknięcie szoku temperaturowego i uczucia dyskomfortu.

- Badane substancje będą rozpuszczane w soli fizjologicznej lub buforach nie indukujących podrażnienia tkanek

(np. monitorowanie pH roztworu).

- Na końcu każdej procedury szczury zostaną uśmiercone przez zastosowanie odpowiedniej metody

- Opiekun zostanie szczegółowo poinformowany przez eksperymentatora o ewentualnych objawach bólu, stresu, dyskomfortu zwierząt wymagających humanitarnego zakończenia procedury.

- Eksperymentator zgłasza pełną gotowość do przeprowadzenia zabiegu uśmiercania w przypadkach nagłych przez zastosowanie humanitarnej procedury uśmiercania.

## **2. Ograniczenie**

- Do doświadczeń wybrano szczury samce Wistar Han (Charles-River Laboratories – Niemcy) z uwagi na opracowany i stosowany model doświadczalny.

- Na ograniczenie liczby wykorzystanych zwierząt pozwalają także inne czynności minimalizujące zmienność,

a zwiększające powtarzalność pomiarów (stabilna pasza, zrównoważone środowisko, jednorodność grup badanych pod względem wieku, masy ciała oraz płci (samce), równy okres kwarantanny, ten sam/znany eksperymentator, zachowanie reżimu czasowego procedur).

- Doświadczenia na szczurach dają bardziej spójne i porównywalne wyniki.

- W celu uzyskania wiarygodnie istotnych statystycznie wyników grupa doświadczalna liczyć będzie 12 zwierząt.

## **3. Zastąpienie**

- W celu zweryfikowania hipotezy badawczej nie można zastosować metody wykluczającej wykorzystanie zwierząt doświadczalnych.

- Zastosowanie zwierząt w planowanym doświadczeniu pozwoli na poznanie działania badanych substancji na cały organizm i będące podstawą jego funkcjonowania tkanki, a także wzajemne interakcje między nimi. Jest to niemożliwe przy zastosowaniu procedur in vitro czy in silico.

- Planowane badania należą do grupy badań podstawowych mających na celu poznanie mechanizmów działania badanych związków, stąd też nie ma możliwości zastąpienia zwierząt metodami alternatywnymi (metody alternatywne opierają się na poznanych już mechanizmach).