

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1.Tytuł projektu: Ocena mechanizmów zaangażowanych w procesy pamięci i objawy depresyjno-lękowe wywołane podaniem kynureniny szczurom w okresie żywienia mlekiem matki

2.Czas trwania projektu: od 1.06. 2020 r. do 31.05. 2023 r.

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

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 związkiem powstającym z tryptofanu w szlaku kynureninowym. Ponad 90% tego aminokwasu jest przekształcane na drodze enzymatycznej w KYN. Zawartość KYN w produktach mlekozastępczych dla dzieci nie jest znana. Według danych z piśmiennictwa 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 sugerując, że może to być ważny czynnik patofizjologiczny u ludzi. Ponieważ obecnie ok. 40% dzieci do 6 miesiąca życia karmionych jest sztucznie i/lub w sposób mieszany (karmienie piersią + karmienie sztuczne), poznanie wpływu składników produktów mlekozastępczych na rozwój dziecka wydaje się kluczowe. Obecny wniosek jest kontynuacją wcześniejszych badań, w których ocenialiśmy wpływ podawania KYN drogą pokarmową w okresie 2-21 dzień życia na poziom metabolitów KYN u szczurów oraz zachowanie dorosłych

zwierząt. Celem obecnego doświadczenia jest rozszerzenie wcześniejszych badań o nowe testy behawioralne i przebadanie wpływu KYN podawanej w sposób analogiczny na pamięć i objawy depresyjno-lękowe. KYN będzie podawana szczurom w okresie 2-21 dzień życia w dawce 50 mg/kg. Następnie w jednej grupie zwierząt, 24 h po ostatnim podaniu KYN będą przeprowadzone testy behawioralne w odstępie 7 dni. Druga grupa zwierząt, gdy osiągnie wiek dorosłości będzie poddana testom oceniającym objawy depresyjno-lękowe.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniu zostaną wykorzystane ciężarne samice szczurów wędrownych szczepu Wistar – 10 samic oraz ich potomstwo obu płci – 80 szczurów.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przeglądając dostępną literaturę stwierdziłam, że zgromadzone dane literaturowe uzasadniają zaplanowane doświadczenie. Pozwoli ono odpowiedzieć na pytania: 1) czy podanie KYN drogą pokarmową w okresie żywienia mlekiem matki będzie miało wpływ na zachowanie młodych zwierząt?, 2) czy podawanie KYN drogą pokarmową w okresie żywienia mlekiem matki będzie miało wpływ na zachowania depresyjno-lękowe dorosłych zwierząt?

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

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

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 10 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 (8 grup x 10=80) potrzebnym jest 10 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 iniekcji (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.