

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Odległe skutki podania amfetaminy na neurotransmisję dopaminergiczną noradrenergiczną i serotonergiczną
2. Czas trwania projektu: 1 rok
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) amfetamina, sensytyzacja, układ dopaminergiczny, układ noradrenergiczny, wokalizacja ultradźwiękowa,
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.

[PB3] badania podstawowe, Układ nerwowy

Cechą charakterystyczną substancji uzależniających i jednym z największych problemów w leczeniu uzależnień jest to, że już pierwsza dawka narkotyku może wywołać trwały efekt, taki jak np. sensytyzacja (nasilenie odpowiedzi na kolejną dawkę w porównaniu do odpowiedzi na pierwszą). Taka trwałość zmian jest również charakterystyczna dla powstawania uzależnień, dlatego sensytyzacja jest często wykorzystywana przy badaniu uzależnień. Podłoże biochemiczne tych procesów nie jest znane. Nasze ostatnie badania sugerują, że już pierwsza dawka amfetaminy (AMF) może inicjować długotrwałe zmiany w metabolizmie dopaminy, obejmujące m. in. spadek syntezy dopaminy. Celem dalszych badań jest (i) sprawdzenie czy rzeczywiście pojedyncze dawki AMF mogą wywołać

długotrwały wpływ na metabolizm dopaminy oraz innych neuroprzekaźników, (ii) czy nasilenie efektu jest zależne od ilości AMF, (iii) czy różnicom indywidualnym w odpowiedzi wokalizacji ultradźwiękowej (wskaźnik pozytywnego stanu emocjonalnego) na AMF towarzyszy zróżnicowanie odpowiedzi biochemicznej. Na podstawie odpowiedzi na AMF w procedurze dwuiniekcyjnego protokołu sensytyzacji szczury zostaną podzielone na silnie (HC) i słabo (LC) odpowiadające na AMF (wg mediany). Zostaną utworzone 3 grupy badane, do każdej z nich będą równomiernie przydzielone szczury LC i HC. W mózgach szczurów dekapitowanych po różnym czasie od ostatniej dawki i po różnej ilości amfetaminy będą oznaczone poziomy neuroprzekaźników i ich metabolitów. Szeroki wachlarz oznaczeń umożliwiających analizę korelacyjną, być może pozwoli na ujawnienie wzajemnych powiązań między szlakami neurotransmisyjnymi i zaangażowanymi w odpowiedź na AMF strukturami.

Podanie zaplanowanych dawek amfetaminy wywołuje tylko przejściowe (około 2 godzin) pozytywne pobudzenie, my chcemy zbadać, czy wywołane amfetaminą zmiany biochemiczne są również widoczne po tygodniach. Szkody po stronie zwierząt to wielokrotne iniekcje i śmierć. Korzyścią po stronie nauki jest, że badania te mogą się przyczynić do znalezienia obszarów mózgu oraz procesów biochemicznych inicjujących trwałe zmiany leżące u podstaw rozwoju uzależnień a tym samym przybliżyć znalezienie skutecznego sposobu leczenia uzależnień.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniu zaplanowano wykorzystanie 84 szczurów.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Uzależnienia są ogromnym problemem ekonomicznym, zdrowotnym, częstą przyczyną śmierci u ludzi. Te badania mają na celu wyjaśnienie procesów inicjujących powstawanie uzależnień i przyczynić się do wytworzenia skutecznej terapii, podczas, gdy szkodliwość dla zwierząt jest znikoma. Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych:

PUBMED, Medline , Google Scholar, Science Direct, Scopus. Wykorzystałam/em słowa kluczowe w różnych zestawieniach:

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

amphetamine/sensitization/dopamine/noradrenaline/striatum, Caudate Putamen, nucleus accumbens, ultrasonic vocalizations

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że:

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że: amfetamina wywołuje przejściowe (do 3 godzin) zwiększenie uwalniania dopaminy w brzuszny i grzbietowy prążkowie. Wywołuje wokalizację ultradźwiękową, co jest interpretowane jako wyraz nagradzającego działania. Dane dotyczące wpływu sensytyzacji behawioralnej na uwalnianie dopaminy są sprzeczne.

B. Brak jest danych dotyczących przedmiotu tego badania, czyli: odległych neurobiologicznych skutków pojedynczych lub wielokrotnych podań amfetaminy, nie udało się znaleźć badań dotyczących odpowiedzi na pytanie, czy obserwowane wśród uzależnionych trwałe zmiany mogą być wywołane inicjacją przez pojedyncze dawki amfetaminy przemian w obrębie układów dopaminergicznego i noradrenergicznego.

W 2017r. 324 000 zgonów było związanych z uzależnieniami od amfetamin. Nie dysponujemy skutecznymi metodami leczenia tego schorzenia, opracowanie farmakoterapii jest palącą potrzebą. Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na: być może znalezienie punktu inicjacji trwałych zmian wywoływanych przez substancje uzależniające, powiązanie nasilenia zmian u szczurów wrażliwych i niewrażliwych na efekty amfetaminy. Znalezienie miejsca (obszar mózgu) i układów neuroprzekątnikowych (noradrenergiczny i dopaminergiczny) może się przyczynić do opracowania celowanej farmakoterapii.

Celem doświadczenia jest zestawienie odczuć szczura związanych z działaniem substancji uzależniającej (odpowiedź emocjonalna) ocenianych na podstawie dźwięków emitowanych przez szczury w paśmie ultradźwiękowym (wokalizacja ultradźwiękowa USV) ze zmianami neurotransmisji w obrębie układu noradrenergicznego i dopaminergicznego (pomiar tkankowych poziomów noradrenaliny, dopaminy, ich metabolitów i enzymów zaangażowanych w metabolizm). Pomiar USV jest uważany za odpowiednik wywiadu z pacjentem. Takie pomiary nie są więc możliwe do zrealizowania na modelach tkankowych lub komórkowych. Liczba zwierząt w doświadczeniu została ograniczona do minimum gwarantującego rzetelną ocenę statystyczną. W celu ograniczenia stresu separacyjnego zwierzęta ustawione będą w sposób zapewniający kontakt wzrokowy, słuchowy i węchowy oraz zostaną zastosowane wzbogacenia w postaci drewnianych klocków oraz tuneli dla gryzoni, gryzaków lub innych elementów wzbogacających środowisko. Ponadto stosowana będzie ściółka bezpyłowa (zapewniająca optymalne warunki zdrowotne), karma Labofeed B (dostarczająca składniki odżywcze). Cały personel pracujący ze zwierzętami (w tym osoby dbające o czystość klatek) jest przeszkolony co do sposobów minimalizowania stresu zwierząt. Procedury przeprowadzane na zwierzętach nie są bolesne, w trakcie habituacji zwierzęta będą przyzwyczajane do chwytu umożliwiającego sprawne wykonanie iniekcji, by zniwelować ewentualny stres. Dodatkowo od momentu rozpoczęcia habituacji, aż do samego końca procedury zwierzęta będą miały codzienny kontakt z eksperymentatorami (głaskanie, ważenie, chwytanie), dzięki czemu bardzo szybko zostaną zauważone ewentualne nieprawidłowości (np. choroba) i możliwa będzie szybka reakcja.

Obserwowane u ludzi negatywne, szkodliwe dla zdrowia, destrukcyjne w sferze społecznej i psychicznej działanie narkotyków dotyczy długotrwałego brania, stosowania dużych dawek i przedawkowywania.

Z tym nie mamy do czynienia w przedstawionym projekcie doświadczenia, gdzie będzie stosowane krótkotrwałe podawanie umiarkowanych dawek. Podczas doświadczenia będzie rejestrowana

emitowana przez szczury wokalizacja ultradźwiękowa, która pozwala na ocenę stanu emocjonalnego zwierząt. Jak wskazują nasze wieloletnie doświadczenia z użyciem tego narzędzia, krótkotrwałe podawaniem umiarkowanych dawek amfetaminy, wywołuje u szczurów pozytywne emocje. Doświadczenie, którego celem jest między innymi uzyskanie tkanki mózgowej do oznaczeń biochemicznych i immunohistochemicznych kończy się niestety śmiercią zwierząt. Ale podczas doświadczenia stres i ból (iniekcja dootrzewnowa) został sprowadzony do bardzo niskiego poziomu. Natomiast zyski po stronie chorych ludzi mogą być bardzo duże.

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.