

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: *Rola kortykoliberyny (CRF) w reakcji na bodźce stresujące oraz rola interakcji pomiędzy układem CRF a hormonami płciowymi w modulowaniu reakcji lękowej w zależności od płci.*

2. Czas trwania projektu: 2 lata.

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): jednorazowy, silny stres; różnice płciowe; hormon stresu; hormony płciowe

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 naukowym** projektu jest ocena zaburzeń pamięci kontekstu awersyjnie uwarunkowanego, wywołującego patologiczną reakcję lękową (utrudnione „zapominanie”) oraz ocena interakcji pomiędzy układem CRF a hormonami płciowymi w predyspozycji do wystąpienia zespołu stresu pourazowego (PTSD) w zależności od płci.

Jednorazowy szok elektryczny może wywoływać u części szczurów zmiany zachowania podobne do obserwowanych u pacjentów z PTSD - nasilenie lęku w miejscu traumatycznym i w innych sytuacjach stresujących, dlatego zwierzęta będą codziennie monitorowane. W przypadku wystąpienia nieprawidłowych objawów stanu zdrowia (zmiany skórne, wydzielina z oczu/nosa, agresja, rany, samouszkodzenia) zwierzęta otrzymają pomoc weterynaryjną. Nie przewidujemy żadnych szkód w zdrowiu fizycznym u zwierząt podczas wykonywania czynności (zdrowe, młode zwierzęta, krótkotrwała procedura, impuls elektryczny nie powodujący uszkodzenia łąp). Zwierzęta zostaną uśmiercone przez dekapitację, ponieważ stosowanie środków znieczulających jest wykluczone ze względu na analizy biochemiczne.

Stres może prowadzić do trwałych zmian neurobiologicznych, które przyczyniają się do rozwoju PTSD. Skutkiem

powstałych zmian psychicznych jest unikanie kontaktów społecznych oraz osłabienie aktywności zawodowej. Ryzyko wystąpienia PTSD jest dwukrotnie wyższe u kobiet niż u mężczyzn, jednak brakuje danych o mechanizmach odpowiedzialnych za zwiększoną podatność kobiet na PTSD. Dostępne dane sugerują, że istotne znaczenie odgrywa CRF, który poprzez receptory CRF1 i CRF2 w hipokampach i ciałach migdałowych reguluje reakcję lękową. W tych obszarach występują receptory estrogenowe ( $ER\alpha$ ,  $ER\beta$ ), dzięki czemu hormony płciowe potencjalnie mogą regulować receptory CRF. Uzyskane wyniki mogą dostarczyć informacji, pozwalających na wskazanie czynników umożliwiających ukierunkowaną diagnostykę i terapię oraz opracowania metod zapobiegania rozwojowi tego schorzenia.

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

60 zwierząt: szczur wędrowny

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

Wszystkie doświadczenia na zwierzętach zostaną przeprowadzone zgodnie z European Community Council Directive (86/609/EECP) oraz zasadą 3 R: **zastąpienia, ograniczenia i udoskonalenia**

**Zasada zastąpienia:** Nasze badania oparte są na ocenie zachowania zwierząt podczas ekspozycji na kontekst awersyjny i poznanie podłoża neurobiologicznego odpowiedzialnego za reakcję behawioralną. Wiadomo, że jednorazowy szok elektryczny może wywoływać u szczurów długotrwałe zmiany zachowania podobne do tych obserwowanych u pacjentów z PTSD, takie jak nasilenie lęku w miejscu związanym traumatycznym wydarzeniem i w innych sytuacjach stresujących. Badania dotyczą bezpośrednio funkcji ośrodkowego układu nerwowego, których złożony charakter uzależniony jest kompleksowego działania sieci neuronalnych, dlatego badania na zwierzętach w warunkach 'in vivo' wydają się bezalternatywne. Ponadto, brak metod alternatywnych w kierunku badań pozwalających na opracowanie markerów trwałych zmian neurobiologicznych, które przyczyniają się do rozwoju zespołu stresu pourazowego. Nie ma możliwości przeprowadzenia badań na poziomie funkcjonalnym i komórkowym na innym materiale (hodowle tkankowe lub komórkowe) niż zwierzęta kręgowce, w tym przypadku szczury. Niemożliwe jest również wykonanie symulacji komputerowych, ze względu na ograniczoną liczbę badań przeprowadzonych na samicach.

**Zasada ograniczenia:** Planowane procedury i czynności o umiarkowanej inwazyjności mają na celu precyzyjne określenie reakcji lękowych: lęku w otwartym polu i reakcji lęku na kontekst awersyjny na możliwie ograniczonej liczbie zwierząt. Zaplanowana liczba zwierząt została ograniczona do poziomu niezbędnego do osiągnięcia celów badawczych. Niestety brakuje możliwości dzielenia się wynikami z innymi grupami badawczymi ze względu na ograniczoną liczbę badań przeprowadzonych na samicach.

**Zasada udoskonalenia:** W niniejszym doświadczeniu zasada udoskonalenia minimalizująca cierpienia zwierząt i utrzymania ich dobrostanu zostanie zrealizowana poprzez udział wykwalifikowanych osób, które posiadają kilkunastoletnie doświadczenie. Zostaną podjęte wszystkie możliwe środki, aby zminimalizować stres zwierząt oraz zapewnić odpowiednie warunki bytowe. Zwierzęta będą przebywały w 12-godzinny cykl światło/ciemność w pomieszczeniu klimatyzowanym (temp. 20-22°C, wilgotność powietrza ok. 50%) ze swobodnym dostępem do pokarmu i wody. Zwierzęta będą przebywały w klatkach zgodnie z wytycznymi obowiązującymi w Unii Europejskiej. W klatkach będą stosowane materiały gniazdowe i dodatkowe wzbogacenie środowiska w postaci drewnianych klocków i papierowych rolek, co daje zwierzętom możliwość redukcji stresu i zaspokaja ich naturalne potrzeby. Szczury będą przebywać po 4 osobniki w klatce (brak stresu separacyjnego u zwierząt stadnych). Klatki są przezroczyste - zachowany kontakt wizualny między większą grupą osobników.

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

Codziennie będzie przeprowadzona kontrola stanu zdrowia zwierząt (Kryteria stosowania humanitarnych punktów końcowych). W przypadku wystąpienia nieprawidłowych objawów stanu zdrowia zostanie niezwłocznie powiadomiony lekarz weterynarii odpowiedzialny za opiekę nad zwierzętami lub opiekun zwierzętarni. Lekarz weterynarii po dokładnym obejrzeniu chorego zwierzęcia decyduje o dalszych etapach postępowania. W przypadku choroby lekarz weterynarii zaleca uśmiercenie zwierząt (pentobarbital w dawce 150 mg/kg po uprzedniej premedykacji mieszaniną ketaminy z ksylazyną, odpowiednio: 100 mg/kg, 10 mg/kg). Procedury badawcze zakończone będą dekapitacją zwierząt, w celu pobrania tkanki do badań immunohistochemicznych i molekularnych. Procedurę dekapitacji wykonuje się w oddzielnym pomieszczeniu od miejsca bytowania zwierząt. Zwierzęta są dekapitowane pojedynczo, przez doświadczonego pracownika przy użyciu specjalistycznej gilotyny. Po każdej dekapitacji gilotyna jest myta w wodzie i w 70% roztworze alkoholu etylowego, roztwór alkoholu rozpyla się także w powietrzu.

Przeszukano bazy danych (Pubmed, Google Scholar, EBSCO, Science Direct) z wykorzystaniem słów kluczowych: 'PTSD, sex differences, CRF, CRF receptors, sex hormones, estrogen, progesteron'. Wykorzystamy doświadczenie innych badaczy w ograniczeniu dyskomfortu zwierząt.

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.