

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Wpływ diety matki na ryzyko uzależnienia od kokainy u potomstwa – badania przedkliniczne.

2. Czas trwania projektu: 4 lata

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) dieta, uzależnienie, kokaina, samopodawanie, testy kognitywne

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.

Nieprawidłowe odżywianie się, preferowanie przez konsumentów pokarmów o dużej zawartości tłuszczu i węglowodanów prowadzi często do nadwagi lub otyłości uznawanej obecnie za chorobę cywilizacyjną i stanowi coraz większy problemem zdrowotny. Z danych WHO wynika, że w 2008 r. 1,5 biliona ludzi dorosłych na całym świecie (w wieku powyżej 20 lat) cierpiało na nadwagę, z czego ok. 500 milionów było otyłych. Niezdrowa dieta w okresie reprodukcyjnym, a w szczególności podczas okresu ciąży i laktacji może wywierać niekorzystny wpływ na prawidłowy rozwój potomstwa oraz zwiększać prawdopodobieństwo występowania u niego chorób psychicznych, czy podatność na uzależnienia od substancji psychoaktywnych. W związku z tym interesujące będzie zbadanie zjawiska wejścia w nałóg kokainowy u potomstwa matek przyjmujących niezdrową dietę w czasie ciąży i laktacji. Równocześnie podjęta zostanie próba odpowiedzi na pytanie jak dieta matki wpływa na fenotyp potomstwa, w tym predyspozycje do zachowań depresyjnych i lękowych oraz na neuromolekularne podłoże tych zaburzeń.

W prezentowanym projekcie badawczym u młodych szczurów zamierza się zastosować metody behawioralne takie jak: model dożylnego samopodawania kokainy, testy oceniające zachowania depresyjne,

lękowe, procesy uczenia się i zachowania impulsywne. Planowane doświadczenia pozwolą ocenić efekty nagradzające kokainy oraz nawrót do nałogu w instrumentalnym modelu samopodawania u potomstwa matek, które w okresie ciąży i laktacji pobierały różne od standardowej paszy hodowlanej rodzaje diet: wysokotłuszczową, wysokowęglowodanową oraz dietę mieszaną (o podwyższonej zawartości węglowodanów i tłuszczu). Wyniki uzyskane w testach behawioralnych zostaną uzupełnione o procedury molekularne i neurochemiczne.

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

W projekcie planujemy wykorzystać łącznie 474 szczury Wistar Han (222 samce i 252 samice).

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

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: PUBMED, ScienceDirect, Web of Science (JCR) oraz Raport EMCDDA (Europejskie Centrum Monitorowania Narkotyków i Narkomanii).

### **Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzamy, że:**

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że: stosowany w tym projekcie model behawioralny dożylnego samopodawania kokainy jest dobrze opracowanym i sprawdzonym modelem zwierzęcym. W dużym stopniu odzwierciedla on zmiany obserwowane u pacjentów. Ponadto pozostałe testy behawioralne wykorzystywane w projektowanym doświadczeniu stanowią podstawę w badaniu zachowań prołękowych, prodepresyjnych i oceniających zdolności pamięciowe u zwierząt w badaniach przedklinicznych. Modele te zostały dobrze opisane oraz przebadane i ograniczają w znacznym stopniu niepotrzebny stres zwierząt przy możliwości prowadzenia wiarygodnych i znaczących doświadczeń.

B. Brak jest danych, o wykorzystaniu badanych rodzajów diet udział w wejściu w uzależnienie od kokainy oraz na zachowania prodepresyjne, prołękowe i impulsywne. Badania uzyskane w proponowanych doświadczeniach mają uzupełnić tę wiedzę.

### **Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:**

A. Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku mechanizmów współwystępowania złych nawyków żywieniowych podczas ciąży oraz laktacji i uzależnienia od kokainy oraz zmian behawioralnych i molekularnych towarzyszących tym zaburzeniom.

B. Wyniki proponowanych badań będą mieć charakter poznawczy, ponieważ dostarczą informacji o wpływie diety wysokotłuszczowej, wysokowęglowodanowej i mieszanej przyjmowanej przez matki na ryzyko wystąpienia zaburzeń w funkcjonowaniu ośrodkowego układu nerwowego u potomstwa. Obecnie nie ma dostępnej wiedzy o wpływie diety matki na uzależnienie od kokainy o potomstwa. Uzyskane dane mogą stać się punktem do ustalenia typów diety, które należy ograniczyć podczas ciąży i laktacji, aby zminimalizować występowanie zaburzeń u potomstwa.

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

Sposób realizacji zasady 3R

## **1. Udoskonalenie**

### *Zwierzęta*

- Wykorzystywane zwierzęta (szczury) są utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku.
- Jednopłciowe grupy badawcze (samce/samice) pozwolą na uniknięcie rywalizacji samców o samicę oraz zredukowanie ilości zmiennych (takich jak płeć) na możliwy rozrzut otrzymanych wyników.
- Zastosowanie właściwej diety; zwierzęta będą karmione certyfikowaną paszą bytową lub certyfikowaną paszą modyfikowaną.
- Od pierwszego dnia procedury zwierzęta będą przetrzymywane w klatkach o powierzchni 1815 cm<sup>2</sup>/18 cm wysokości (T4) po 6 osobników, natomiast w okresie rekonwalescencji oraz w czasie prowadzenia doświadczeń pojedynczo w kławkach o wymiarach 825 cm<sup>2</sup>/18 cm wysokości (T3) na ściółce niepalącej z małą zawartością żywic.
- Stały kontakt i pomoc ze strony lekarza weterynarii pozwoli na zapewnienie odpowiednich warunków bytowych oraz szybkiej interwencji lekarskiej w razie choroby zwierzęcia.

### *Pomieszczenie bytowe*

- Zwierzęta będą przebywały w pomieszczeniu bytowym służącym tylko do tego celu, w którym nie będą wykonywane czynności tj. iniekcje, eksperyment, uśmiercanie.
- Pomieszczenie bytowe będzie oddzielone od pozostałych pomieszczeń co pozwoli na redukcję hałasu. Pomieszczenie bytowe 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.

### *Pomieszczenie eksperymentalne i przygotowań*

- Czynności tj. iniekcje badanych substancji, anestezja, implantacja kateteru, będą wykonane w tzw. pokoju przygotowań.
- Po zabiegu implantacji zwierzęta zostaną przeniesione do pokoju bytowego, gdzie 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 i cierpienie.
- Opracowane instrukcje postępowania ograniczą stres zwierząt.
- Wszystkie czynności będą wykonywane przez znanego zwierzętom i doświadczonego eksperymentatora lub osobę uczestniczącą.
- Przed operacją zwierzęta zostaną poddane anestezji z wykorzystaniem niewielkiej ilości odpowiednich leków. 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.
- Na końcu każdej procedury szczury zostaną uśmiercone przez zastosowanie odpowiedniej metody tj. środka farmakologicznego lub poprzez dekapitację.
- 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 ilości wykorzystanych zwierząt pozwalają także inne czynności minimalizujące zmienność i zwiększające powtarzalność pomiarów takie jak: stabilna pasza; zrównoważone środowisko; jednorodność grup badanych pod względem wieku, masy ciała oraz płci (samce/samice); równy okres kwarantanny; ten sam/znany eksperymentator, zachowanie reżimu czasowego procedur.

- Doświadczenia na szczurach dają bardziej spójne i porównywalne wyniki.

- W celu ograniczenia liczby zwierząt testy: wymuszonego pływania (Porsolta), aktywności lokomotorycznej, podniesionego labiryntu zostaną przeprowadzone na tej samej grupie zwierząt. Natomiast test rozpoznawania nowego obiektu oraz test na impulsywność na kolejnej grupie.

- W celu uzyskania szerszych danych oraz ograniczenia uśmiercenia jednej płci zwierząt z danego miotu do badań włączone zostaną zarówno samce, jak i samice.

- W celu ograniczenia liczby zwierząt wykorzystywanych w doświadczeniach, w przypadku niektórych procedur pobrane zostaną takowo tkanki obwodowe, aby utworzyć bank tkanek.

- W celu uzyskania wiarygodnie istotnych statystycznie wyników każda z grup doświadczalnych liczyć będzie 8 lub 10 zwierząt (w zależności od testu).

## **3. Zastąpienie**

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

- Zastosowanie zwierząt w planowanym doświadczeniu pozwoli na poznanie wpływu badanych diet na cały organizm, a w szczególności na ośrodkowy układ nerwowy. Jest to niemożliwe przy zastosowaniu procedur in vitro, czy in silico.

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