

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Ekspresja białka c-fos w mózgu myszy o niskim i wysokim poziomie perseweracji.

2. Czas trwania projektu 12 miesięcy

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) perseveration, mice, c-fos, brain, activity

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) A. Badania podstawowe

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.

Perseweracja jest patologiczną formą zachowania polegającą na uporczywym powtarzaniu błędnego zachowania w reakcji na określony bodziec. Zwiększona skłonność do perseweracji występuje w wielu chorobach takich jak uzależnienia, schizofrenia i autyzm oraz u osób starszych. Perseweracja utrudnia rozwiązywanie problemów w nowych sytuacjach i poważnie przyczynia się do występowania różnych zaburzeń psychicznych. Celem planowanych badań jest zidentyfikowanie podłoża neuroanatomicznego perseweracji u myszy laboratoryjnych w reakcji na bodziec wzrokowy, sprawdzenie czy chroniczne podawanie ketaminy wywołuje podobne zaburzenia perseweracyjne jak u małp oraz porównanie uzyskanych wyników mapowania aktywności mózgu z danymi literaturowymi analogicznych badań przeprowadzonych na ludziach i małpach. Wystąpienie zmian w aktywności tych samych obszarów mózgu (np. kory przedczołowej) będzie wskazywać na podobne mechanizmy perseweracji u myszy i naczelnych, co będzie podstawą walidacji mysiego modelu perseweracji. Badania zostaną przeprowadzone przy pomocy analizy ekspresji białka c-fos (marker aktywności neuronalnej) na skrawkach mózgowych oraz testu behawioralnego wykorzystującego bodziec wzrokowy do wywołania perseweracji. Zaplanowane badania pozwolą na poznanie mechanizmów perseweracji u myszy w reakcji na bodziec wzrokowy oraz na walidację mysiego testu perseweracji jako alternatywy dla testów farmakologicznych wykonywanych na małpach. Będzie to podstawą do ograniczenia wykorzystania małp w badaniach farmakologicznych. Zidentyfikowanie podłoża neuroanatomicznego będzie również podstawą do przeprowadzenia w przyszłości badań molekularnych w wytypowanych częściach mózgu.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mysz domowa (*Mus musculus*) 43 osobniki

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Ograniczenie

Liczba zwierząt została ograniczona do minimum niezbędnego do osiągnięcia celu na podstawie odpowiednich testów statystycznych zgodnie z zaleceniami dotyczącymi badań behawioralnych i neurobiologicznych (<http://www.sample-size.net/correlation-sample-size/> ; Guidelines for the Care and Use of Mammals in Neuroscience and Behavioral Research, Appendix A, <http://www.nap.edu/catalog/10732.html>). Zastosowanie metody analizy białka c-fos na skrawkach mózgowych umożliwia badanie aktywności komórek nerwowych w obrębie całego mózgu, co pozwala na uzyskanie dużej liczby informacji z jednego eksperymentu. Dobór zwierząt (krzyżówka szczepu CBA/H i C57BL10) spełniających wymagania zaplanowanego testu behawioralnego (szybkie uczenie się w testach opartych na bodźcach wzrokowych, sprawne pływanie), co jest podstawą redukcji stresu w czasie testów behawioralnych.

Zastąpienie

Wybrano gatunek o możliwie najniższym poziomie rozwoju w porównaniu z innymi ssakami wykorzystywanymi w badaniach laboratoryjnych. Zaplanowany gatunek zapewnia jednocześnie porównywalność z mechanizmami występującymi u ludzi ze względu na przynależność do tej samej grupy systematycznej (ssaki) i wynikające z tego podobieństwo biologiczne oraz ze względu na łatwość wykonywania modyfikacji genetycznych pozwalających na „humanizowanie” modeli mysich. Przeprowadzone badania pozwolą na porównanie mechanizmów neuroanatomicznych u myszy z danymi literaturowymi dotyczącymi małp. Stwierdzenie podobnych mechanizmów neuronalnych (np. zaangażowanie kory przedczołowej) będzie podstawą do zastąpienia małp w testach farmakologicznych wykorzystujących testy perseweracji wywołanej bodźcem wzrokowym (1,2).

1) Lipina SJ, Colombo JA. Premorbid exercising in specific cognitive tasks prevents impairment of performance in parkinsonian monkeys. Brain Res. 2007 Feb 23;1134(1):180-6.

2) Jentsch JD, Roth RH, Taylor JR. Object retrieval/detour deficits in monkeys produced by prior

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

subchronic phencyclidine administration: evidence for cognitive impulsivity. Biol Psychiatry. 2000 Sep 1;48(5):415-24.

Doskonalenie

W teście perseweracji została zastosowana niewielka głębokość wody, dzięki czemu zwierzę może stanąć tylnymi łapkami na dnie zbiornika. Zwiększa to dobrostan zwierząt w czasie testu, ponieważ mysz nie musi obawiać się utonięcia. Dodatkowo, zaplanowana głębokość wody daje możliwość odpoczynku, ponieważ mysz nie jest zmuszona do pływania przez cały czas trwania testu. Dobór parametrów został oparty na naszych wcześniejszych badaniach prowadzonych z wykorzystaniem basenu i myszy krzyżówki CBA/H i C57Bl10. Płytką woda jest skutecznym sposobem motywowania myszy w testach behawioralnych a jednocześnie jest znacznie mniej stresująca niż inne procedury takie jak zastosowanie czynników bólowych lub deprywacja pokarmowa. Co więcej, zaplanowana metoda nie wymaga długotrwałego treningu wstępnego w przeciwieństwie do klatek instrumentalnych. Dobrostan będzie zapewniony przez wzbogacenie środowiska oraz wzbogacenie żywieniowe.

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych:

__EBSCO; __PUBMED; __Google Scholar; __ScienceDirect; __Web of Science (JCR); __

Wykorzystałem słowa kluczowe:

Perseveration/visual/brain/activity/mice

Perseveration/visual/c-fos/mice

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że brak jest badań poświęconych mapowaniu funkcjonalnej anatomii mózgu odpowiedzialnej za persewerację u myszy w reakcji na bodziec wzrokowy.