

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Wpływ kynureniny podawanej drogą pokarmową w okresie żywienia mlekiem matki na rozwój i zachowanie dorosłych szczurów

2. Czas trwania projektu: od 1.09. 2019 r. do 31.08. 2020 r.

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): kynurenina, kwas kynureninowy, tryptofan, pamięć, szczury

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 metabolitem tryptofanu. Pocivavsek i wsp. (2012) wykazali, że 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. Mimo powszechnego stosowania produktów mlekozastępczych przeznaczonych do żywienia dzieci ich skład nadal nie jest w pełni poznany. Zawartość KYN w produktach dla dzieci nie jest ujawniana przez producentów; nie ma również odpowiednich danych w piśmiennictwie naukowym. W 2015 roku Dowlatti i wsp. wykazali, że w hydrolizowanych produktach mlekozastępczych zawartość tryptofanu jest nawet 7-10 tys. razy wyższa niż w naturalnym mleku matki. Autorzy ci nie zmierzili zawartości KYN, ale przyjmując za piśmiennictwem, że nawet 90% tryptofanu jest przekształcane na drodze enzymatycznej w KYN, można

zakładać, że spożywanie takich produktów prowadzi do ponadfizjologicznej zawartości KYN w organizmie dziecka. Opierając się na powyższych danych planowane doświadczenie ma na celu określenie wpływu KYN podawanej drogą pokarmową w okresie żywienia mlekiem matki (2-21 dzień życia) na zachowanie dorosłych szczurów.

Ponieważ takie badania nie były do tej pory przeprowadzane, otrzymane wyniki pozwolą odpowiedzieć na pytania: 1) czy podawanie KYN drogą pokarmową jeden raz dziennie w okresie 2-21 dzień życia powoduje zmiany zawartości metabolitów KYN w organizmie oraz 2) czy KYN podawana według wyżej opisanego schematu wpływa na rozwój fizyczny i psychoruchowy dorosłych zwierząt ?

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

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

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy sprawdzona została istniejąca wiedza w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych PubMed, Web of Science (JCR) oraz Science Direct. Wykorzystano następujące słowa kluczowe: kynurenine, kynurenic acid, tryptophan, prenatal, adolescence, adult, memory, behaviour.

Przeglądając dostępną literaturę stwierdziłam, że zgromadzone dane literaturowe uzasadniają zaplanowane doświadczenie. Pozwoli ono odpowiedzieć na pytania: 1) czy KYN dobrze się wchłania po podaniu drogą pokarmową, 2) czy podawanie KYN drogą pokarmową jeden raz dziennie w okresie 2-21 dzień życia powoduje zmiany zawartości metabolitów KYN w organizmie, 3) czy i jak KYN wpływa na rozwój fizyczny i psychoruchowy dorosłych zwierząt?

Przygotowując projekt badawczy zastosowałam zasadę 3R:

REPLACEMENT - *zastąpienie doświadczeń na zwierzętach metodami in vitro (hodowle komórkowe,*

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

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 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 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) potrzebnych 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

badan 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.