

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: „*Badanie wpływu prenatalnej ekspozycji na benzofenon-3 (BP-3) na zaburzenia zachowania myszy*”

2. Czas trwania projektu: **3 lata**

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) **neurorozwój, ksenobiotyki, neurotoksyczność, filtry UV, zaburzenia zachowania**

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) **A. Badania podstawowe**

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.

Obserwowany ostatnio znaczny wzrost liczby przypadków autyzmu, zespołu nadpobudliwości psychoruchowej z deficytem uwagi (ADHD) czy trudności w uczeniu się i agresji zwrócił uwagę badaczy i klinicystów na występujące w środowisku substancje hormonalnie czynne i ich możliwy wpływ na funkcjonowanie układu nerwowego.

Benzofenon-3 (BP-3) jest najczęściej używanym filtrem UV. W Europie, do września 2017 stanowił nawet 10% kosmetyku (obecnie można go stosować do 6%). Należy zauważyć, że BP-3 jest składnikiem wielu codziennie używanych kosmetyków (w tym szamponów, płynów do kąpieli, kolorowych kosmetyków), a nie tylko kremów przeciwsłonecznych. Badania populacyjne wykazały, że na BP-3 narażonych jest co najmniej 97% społeczeństwa. Co gorsza, BP-3 z łatwością wnika do naszego organizmu przez skórę i tylko w niewielkim stopniu zostaje z niego wydalony. Zważywszy na fakt, że łatwo akumuluje się on w tkance tłuszczowej człowieka (~5 mg BP-3/kg tłuszczu), należy podejrzewać, że poszczególne dawki BP-3 z kolejnych aplikacji kosmetyków akumulują się i

oddziałują bardzo niekorzystnie na organizm ludzki. Szczególnie wrażliwy na szkodliwe działanie BP-3 może być mózg składający się w co najmniej 60% z tkanki tłuszczowej.

Dlatego obecna hipoteza badawcza zakłada, że prenatalna ekspozycja (względnie ekspozycja w wieku młodocianym) na benzofenon-3 wywołuje zmiany behawioralne u zwierząt w okresie adolescencji, względnie dorosłych myszy. Aby zweryfikować tę hipotezę badawczą, niezbędna jest do przeprowadzenia seria eksperymentów z wykorzystaniem zwierząt i powszechnie akceptowanych testów behawioralnych, a po ich wykonaniu, analiza biochemiczna i molekularna komórek nerwowych pochodzących od ww. zwierząt z wykorzystaniem najnowszych technik i metod badawczych.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

370 osobników – mysz domowa (*Mus musculus*)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przed przystąpieniem do badań, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: PUBMED, ScienceDirect, Web of Science (JCR).

Wykorzystano słowa kluczowe:

benzophenone-3, behavior, in vivo, prenatal exposure, neurodevelopment, neurodegeneration, memory,

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzono, że:

Istnieje silna zależność pomiędzy narażeniem na związki endokrynnie czynne a ryzykiem wystąpienia zaburzeń w obrębie układu rozrodczego, dokrewnego, a także zmian behawioralnych. Brak jest danych na temat prenatalnej ekspozycji na benzofenon-3 w kontekście zmian zachowania myszy. Dlatego też proponowane plany badawcze dotyczą ekspozycji myszy ciężarnych przez okres trwania ciąży, a następnie prowadzeniu badań na potomstwie, tj. osobnikach prenatalnie traktowanych BP-3. W trakcie badań zwierzęta będą poddawane różnym testom behawioralnym sprawdzającym zaburzenia zachowania myszy.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

Poznanie wpływu BP-3 na zmiany zachowania zwierząt pozwoli scharakteryzować podatność embrionalnych komórek nerwowych na BP-3 i może przyczynić się do wycofania lub też kontrolowanego użycia tej substancji przez człowieka.

Sposób realizacji zasady 3R

1. Zastąpienie

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

W celu zweryfikowania hipotezy badawczej polegającej na weryfikacji zachowań zwierząt, nie można zastosować metody wykluczającej wykorzystanie zwierząt doświadczalnych. Zastosowanie zwierząt kręgowych w planowanym doświadczeniu pozwoli na poznanie działania badanych substancji na cały organizm i będące podstawą jego funkcjonowania tkanki, a także wzajemne interakcje między nimi. Jest to niemożliwe przy zastosowaniu procedur *in vitro*, *in silico* czy z wykorzystaniem zwierząt niżej zorganizowanych. Planowane badania należą do grupy badań podstawowych mających na celu poznanie mechanizmów działania badanych związków, stąd też nie ma możliwości zastąpienia zwierząt metodami alternatywnymi.

Wykorzystanie zwierząt do planowanych badań jest niezbędne, by zweryfikować hipotezę, która zakłada, że benzofenon-3 zaburza neurorozwój, czego skutkiem mogą być zaburzenia zachowania i pamięci. Nie jest możliwe zweryfikowanie tej hipotezy w żaden inny sposób, jak tylko wykonując testy behawioralne na zwierzętach. Badania te są poprzedzone badaniami *in vitro* na pierwotnych hodowlach embrionalnych komórek nerwowych myszy, co znacząco zmniejsza liczbę zwierząt laboratoryjnych wykorzystanych do badań. Tkanki do badań molekularnych będą pozyskiwane od zwierząt na których prowadzone były testy behawioralne.

2. Ograniczenie

Postępowanie to obejmuje metody, które pozwalają na zmniejszenie całkowitej liczby zwierząt użytych w doświadczeniu (lub teście) i uzyskanie porównywalnego zakresu danych (informacji) z użyciem mniejszej ich liczby. Do doświadczeń wybrano myszy IGS CD1 (Swiss Albino) z uwagi na opracowany i stosowany model doświadczalny prenatalnej ekspozycji na benzofenon-3. Na ograniczenie liczby wykorzystanych zwierząt pozwalają także inne czynności minimalizujące zmienność, a zwiększające powtarzalność pomiarów (stabilna pasza, zrównoważone środowisko, jednorodność grup badanych pod względem wieku, masy ciała, równy okres kwarantanny, ten sam/znany eksperymentator, zachowanie reżimu czasowego procedur). Redukcja wykorzystanych zwierząt będzie także polegała na tym, że od zwierząt na których będą prowadzone testy behawioralne, zostaną pobrane tkanki, niezbędne do przyszłych analiz molekularnych.

3. Udoskonalenie

Wykorzystywane zwierzęta (myszy) będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku. Zastosowane metody badawcze zostały wybrane tak aby ograniczyć do minimum albo eliminować ból, cierpienie. Na końcu każdej procedury myszy zostaną uśmiercone przez zastosowanie odpowiedniej, humanitarnej metody. Do analizy uzyskanych wyników zostaną wykorzystane właściwe, nowoczesne metody badawcze (qPCR, ELISA, western blot, mikromacierze mRNA, analizy miRNA), które dadzą odpowiedź na postawione pytania i umożliwią osiągnięcie celu doświadczenia. Wykorzystanie modeli i narzędzi opartych na najnowszej nauce i technologiach w celu rozwiązywania ważnych problemów naukowych pozwoli na zminimalizowanie wykorzystywania zwierząt.

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.