

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Zaburzona interakcja pomiędzy podjednostkami receptora NMDA a białkami rusztowania komórkowego podczas abstynencji kokainowej jako krytyczny punkt w regulacji zachowania poszukiwawczego i nawrotu do nałogu

2. Czas trwania projektu 12 m-cy

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) kokaina, receptory NMDA, szczur, samopodawanie, uzależnienie

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

Uzależnienie od substancji psychoaktywnych jest chorobą ośrodkowego układu nerwowego, która charakteryzuje się utratą kontroli nad natrętnym (kompulsywnym) poszukiwaniem i przyjmowaniem substancji uzależniającej. Nawroty do nałogu są indukowane przez wiele czynników, w tym stres, negatywny afekt, czy bodźce środowiskowe kojarzone z pobieraniem substancji uzależniającej.

W ostatnich latach jedna z ostatnich hipotez dotycząca powstawania uzależnień postuluje zaburzenia plastyczności synaptycznej i tym samym procesów uczenia się. Biorąc pod uwagę istotne zaangażowanie neurotransmisji glutaminianergicznej w kontroli plastyczności synaptycznej, procesów uczenia się i warunkowania, w ostatnich latach zwrócono uwagę na receptory glutaminianergiczne NMDA i ich udział w mechanizmach abstynencji i nawrotów do nałogów.

Badania przedkliniczne nad uzależnieniem od kokainy i innych psychoaktywnych nadużywanych substancji (podczas chronicznych podań związków) wykazały rolę receptorów NMDA w efektach nagradzających, nawrotach do nałogu oraz w konsolidacji pamięci wytworzonej podczas asocjacji substancja uzależniająca-bodziec kontekstowy. Dotychczasowe wyniki

nie pozwalają jednakże na stworzenie pełnego obrazu dotyczącego zaangażowania receptorów NMDA i podjednostek wspominanych wyżej receptorów w fenomen uzależnienia od kokainy.

W ostatnich badaniach wykazaliśmy zmiany w podjednostce NR2B receptora NMDA u zwierząt aktywnie biorących kokainę w różnych procedurach odstawienia. Celem dalszych badań jest sprawdzenie czy antagonist podjednostki NR2B receptora NMDACP 101606 jest w stanie zahamować nawrót do nałogu

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

90 zwierząt; szczur, samiec, szczep Wistar Han

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Sposób realizacji zasady 3R

1. Udoskonalenie

Zwierzęta

- Wykorzystywane zwierzęta (szczury) są utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku.
- Jednopłciowe grupy badawcze (samce) 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.
- Od pierwszego dnia procedury zwierzęta będą przetrzymywane w klatkach o powierzchni 59 x 38 x 20 cm wysokości (T4) po 5 osobników, natomiast w okresie rekonwalescencji oraz w czasie prowadzenia doświadczeń pojedynczo w kławkach o wymiarach 42 x 26,5 x 18 cm (T3) na ściółce niepalnej z małą zawartością żywic.
- Stały kontakt i pomoc ze strony lekarza weterynarii pozwoli na zapewnienie odpowiednich warunków bytowych.

Pomieszczenie bytowe

- Zwierzęta będą przebywały w pomieszczeniu bytowym służącym tylko do tego celu;
- Pomieszczenie bytowe będzie oddzielone od pozostałych pomieszczeń co pozwoli na redukcję hałasu. Pomieszczenie to 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.

Pomieszczenia eksperymentalne i przygotowań do eksperymentów

- Zaplanowane czynności (tj. iniekcje badanych substancji, anestezja, implantacja kateteru) będą wykonane w tzw. pokoju przygotowań.
- Po zabiegu implantacji kateteru zwierzęta 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, cierpienie.
- Opracowane instrukcje postępowania zapewnią ich regularny i powtarzalny sposób wykonania co ograniczy stres zwierząt.
- Wszystkie czynności będą wykonywane przez znanego zwierzętom i doświadczonemu eksperymentatorowi lub osobę uczestniczącą.
- Podawane zwierzętom w trakcie doświadczenia roztwory będą miały temperaturę zbliżoną do temperatury szczurów co

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

zapewni uniknięcie szoku temperaturowego i uczucia dyskomfortu.

- Badane substancje będą rozpuszczane w soli fizjologicznej lub buforach nie indukujących podrażnienia tkanek (np. monitorowanie pH roztworu).
- Na końcu każdej procedury szczury zostaną uśmiercone przez zastosowanie odpowiedniej metody
- 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 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 oraz płci (samce), równy okres kwarantanny, ten sam/znany eksperymentator, zachowanie reżimu czasowego procedur).

- Doświadczenia na szczurach dają bardziej spójne i porównywalne wyniki.

- W celu uzyskania wiarygodnie istotnych statystycznie wyników grupa doświadczalna liczyć będzie 10 zwierząt.

3. Zastąpienie

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

- Zastosowanie zwierząt 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 czy in silico.

- Planowane badania należą do grupy badań podstawowych mających na celu poznanie mechanizmu działania badanego związku, stąd też nie ma możliwości zastąpienia zwierząt metodami alternatywnymi.

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.