

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Efekty OSU 6162 antagonisty receptorów σ_1 w modelu samopodawania kokainy u szczurów.

2. Czas trwania projektu 19 m-cy

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) kokaina, szczur, samopodawanie, uzależnienie, receptor σ_1

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

W badaniach na zwierzętach kokaina wywołuje różnego rodzaju efekty behawioralne związane głównie z aktywacją szlaku dopaminowego (mezo limbicznego) w mózgu. Liczne dane literaturowe *in vitro* oraz *in vivo* wskazują na rolę w nagradzających efektach kokainy i nawrotach zachowań poszukiwawczych tej substancji (nawroty do nałogu) receptorów adenozynowych A_{2A} mogących występować w postaci monomerów, homodimerów i heterodimerów (np. z receptorami dopaminowymi D_2). Do tej pory nieznany jest udział kompleksu receptorów A_{2A} - D_2 - σ_1 w nagradzających efektach kokainy. Behawioralna i molekularna rola kompleksów heteroreceptorów A_{2A} - D_2 w zachowaniach indukowanych kokainą poprzez σ_1 receptor może poszerzyć wiedzę na temat podłoża uzależnień oraz przyczynić się do skutecznej farmakoterapii tej choroby mózgu. W procedurze nabywania samopodawania kokainy zostanie podany obwodowo ligand receptora σ_1 , w celu zbadania efektu behawioralnego u szczurów aktywnie samo podających kokainę aby móc powiązać

te efekty ze zmianami w kompleksach heteroreceptorów A_{2A}-D₂ w prążkowie brzuszny i grzbietowy przy użyciu testu PLA oraz technik biochemicznych wiązania białek.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

90 zwierząt; szczur, samiec, szczep Sprague-Dawley

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 samice oraz zredukowanie ilości zmiennych (takich jak płć) 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 klatkach 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 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

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

- 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 Sprague-Dawley (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.