

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Efekty behawioralne i molekularne u potomstwa matek karmionych zmodyfikowaną dietą – badania przedkliniczne.
2. Czas trwania projektu: 18 miesięcy
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) układ melanokortynowy, dieta matki, kokaina, samopodawanie
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.

Koncepcji „rozwojowego pochodzenia zdrowia i choroby” (ang. *The Developmental Origins of Health and Disease*) zakłada, że dieta matki w okresie płodowym jak i wczesnym poporodowym wpływa na rozwój fizyczny i umysłowy potomstwa oraz może stanowić czynnik indukujący wiele chorób (np. otyłość, nasiloną impulsywność, depresję czy lęk), czyli czynników, które inicjują rozwój zależności od substancji psychoaktywnych. Z danych WHO wynika, że w 2008 r. 1,5 biliona ludzi w wieku powyżej 20 lat cierpiało na nadwagę. Niezdrowa dieta w okresie reprodukcyjnym, a w szczególności podczas okresu ciąży i laktacji może wywierać niekorzystny wpływ na prawidłowy rozwój potomstwa oraz zwiększać prawdopodobieństwo występowania u niego chorób psychicznych, czy podatność na uzależnienia.

Nasze dotychczasowe badania wskazują, że zmodyfikowana dieta matki może w sposób istotny zwiększać zachowania poszukiwawcze do kokainy po okresie odstawienia u potomstwa. Dlatego celem planowanych badań podstawowych będzie zbadanie neuromolekularnego podłoża obserwowanych zmian w modelu dożylnego samopodawania kokainy oraz zwiększenie wiedzy na temat fenotypu potomstwa w kontekście zachowań depresyjnych (anhedonia) oraz sprawności procesów uwagi.

Ponieważ układ melanokortynowy mózgu działając poprzez receptory typu 4 kontroluje – między innymi – zachowania żywieniowe, pamięć, wzmocnienie pozytywne i emocje, receptory te zostały wybrane jako potencjalny molekularny biomarker obserwowanych zmian behawioralnych oraz cel dla możliwej terapii uzależnień od narkotyków.

Proponowane badania prowadzą do generowania nowej wiedzy na temat podłoża molekularnego uzależnienia od kokainy oraz zrozumienia wpływu diety matki w czasie ciąży i laktacji na rozwój psychiczny potomstwa. Podjęcie planowanych badań może być uzasadnione również względami społeczno-ekonomicznymi, ponieważ zarówno narkomania, jak i otyłość generują ogromne koszty społeczne.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W projekcie planujemy wykorzystać łącznie 311 szczurów Wistar Han (192 samców i 119 samic).

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

1. Udoskonalenie

Zwierzęta

- Wykorzystywane zwierzęta (szczury) są utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku.
- Jednopłciowe grupy badawcze (samce/samice) 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 lub certyfikowaną paszą modyfikowaną.
- Od pierwszego dnia procedury zwierzęta będą przetrzymywane w klatkach o powierzchni 1815 cm²/18 cm wysokości (T4) po 5-6 osobników, natomiast w okresie rekonwalescencji oraz w czasie prowadzenia doświadczeń pojedynczo w kłatkach o wymiarach 825 cm²/18 cm wysokości (T3) na ściółce niepalącej z małą zawartością żywic.
- Stały kontakt i pomoc ze strony lekarza weterynarii pozwoli na zapewnienie odpowiednich warunków bytowych oraz szybkiej interwencji lekarskiej w razie choroby zwierzęcia.

Pomieszczenie bytowe

- Zwierzęta będą przebywały w pomieszczeniu bytowym służącym tylko do tego celu, w którym nie będą wykonywane czynności tj. iniekcje, eksperyment, uśmiercanie.
- Pomieszczenie bytowe będzie oddzielone od pozostałych pomieszczeń co pozwoli na redukcję hałasu.
- Pomieszczenie bytowe 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.

Pomieszczenie eksperymentalne i przygotowań

- Czynności tj. iniekcje badanych substancji, anestezja, implantacja kateteru, będą wykonane w tzw. pokoju przygotowań.
- Po zabiegu implantacji zwierzęta zostaną przeniesione do pokoju bytowego, gdzie 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 i cierpienie.
- Opracowane instrukcje postępowania ograniczą stres zwierząt.
- Wszystkie czynności będą wykonywane przez znanego zwierzętom i doświadczanego eksperymentatora lub osobę uczestniczącą.
- Przed operacją zwierzęta zostaną poddane anestezji z wykorzystaniem niewielkiej ilości odpowiednich leków.
- Oczy poddanych anestezji szczurów zostaną zabezpieczone przed wysuszeniem poprzez aplikację sztucznych łez.
- 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.
- Po operacji zwierzęta otrzymają środek przeciwbólowy.
- Na końcu każdej procedury szczury zostaną uśmiercone przez zastosowanie odpowiedniej metody tj. środka farmakologicznego lub poprzez dekapitację.
- 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 ilości wykorzystanych zwierząt pozwalają także inne czynności minimalizujące zmienność i zwiększające powtarzalność pomiarów takie jak: stabilna pasza; zrównoważone środowisko; jednorodność grup badanych pod względem wieku, masy ciała oraz płci (samce/samice); równy okres kwarantanny; ten sam/znany eksperymentator, zachowanie reżimu czasowego procedur.
- Doświadczenia na szczurach dają bardziej spójne i porównywalne wyniki.

- W celu ograniczenia liczby zwierząt testy: test obciążenia glukozą oraz test preferencji sacharozy zostaną wykonane na tej samej grupie zwierząt. Dodatkowo testy te zostaną wykonane w dwóch punktach czasowych co pozwoli stwierdzić potencjalne zmiany w zależności od wieku potomstwa.
- W celu uzyskania szerszych danych oraz ograniczenia uśmiercenia jednej płci zwierząt z danego miotu do badań włączone zostaną zarówno samce, jak i samice.
- W celu ograniczenia liczby zwierząt wykorzystywanych w doświadczeniach, w przypadku niektórych procedur pobrane zostaną dodatkowo tkanki obwodowe, aby utworzyć bank tkanek.
- W celu uzyskania wiarygodnie istotnych statystycznie wyników każda z grup doświadczalnych liczyć będzie 6-12 zwierząt (w zależności od testu).

3. Zastąpienie

- W celu zweryfikowania hipotezy badawczej nie można zastosować metody wykluczającej wykorzystanie zwierząt doświadczalnych.
- Zastosowanie zwierząt w planowanym doświadczeniu pozwoli na poznanie wpływu badanych diet na cały organizm, a w szczególności na ośrodkowy układ nerwowy. Jest to niemożliwe przy zastosowaniu procedur in vitro, czy in silico.
- Planowane badania należą do grupy badań podstawowych mających na celu poznanie mechanizmów wpływu diet matczynych, stąd też nie ma możliwości zastąpienia zwierząt metodami alternatywnymi (metody alternatywne opierają się na już poznanych mechanizmach).

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną¹

- ☒ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- ☐ NIE

¹ Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.