

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Charakterystyka wybranych receptorów glutamatergicznych (jono- i metabotropowych) w mechanizmach uzależnienia od kokainy.

2. Czas trwania projektu: 7 miesięcy

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów):

uzależnienie kokainowe, nawrót zachowań poszukiwawczych, glutamatergiczne receptory jonotropowe, glutamatergiczne receptory metabotropowe

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.

Mimo wielu lat badań nad znalezieniem skutecznej farmakoterapii uzależnienia od kokainy, nie ma skutecznego leczenia tej choroby. Obecnie strategie leczenia uzależnienia kokainowego obejmują stosowanie substancji, które wpływają na neurotransmisję dopaminową bezpośrednio lub pośrednio, poprzez modulowanie aktywności innych neuroprzekaźników. Dotychczasowe dane literaturowe wskazują na interakcję pomiędzy układem dopaminowym oraz obecność receptorów glutamatergicznych (jonotropowych i metabotropowych) w strukturach dopaminowego szlaku mezokortykolimbicznego, związanego z uzależniającymi efektami kokainy, przemawia za możliwością kontroli przez te receptory efektów behawioralnych kokainy. Co więcej, antagoniści receptorów NMDA, AMPA oraz metabotropowych grupy I odgrywają istotną rolę w hamowaniu efektów nagradzających i nawrotu zachowań poszukiwawczych kokainy czy innych substancji uzależniających. Wyniki tych doświadczeń behawioralnych wskazują na kluczową rolę układu glutamatergicznego w mechanizmach uzależnienia od kokainy. Dlatego też wydają się konieczne dalsze prowadzenie przedklinicznych badań mających na celu ocenę efektów związanych ze zmianami w neurotransmisji glutamatergicznej na poziomie receptorów oraz lokalizacji tych zmian w komórce w zwierzęcych modelach uzależnień.

Zaproponowane do wykonania doświadczenie na niewielkiej liczbie zwierząt, jest wyraźną sugestią Recenzentów dotyczącą naszej pracy wysłanej do recenzji w czasopiśmie z listy filadelfijskiej, pozwoli uzupełnić i zweryfikować wiedzę na temat wpływ nagradzających efektów kokainy oraz nawrotu do nałogu u szczurów w instrumentalnym modelu samopodawania na zmianę gęstości i ekspresję receptorów glutamatergicznych. W prezentowanym projekcie badawczym zamierza się stosować model behawioralny (samopodawanie kokainy i wygaszenie/nawrót zachowań poszukiwawczych i będzie to dodatkowa grupa kontrolna do już wcześniej uzyskanych wyników.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

12 sztuk; szczur, samiec, szczep: Wistar Han (dostawca Charles River, Niemcy).

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzono, że:

A. Stosowany w tym projekcie model behawioralny dożylnego samopodawania kokainy jest dobrze opracowanym i sprawdzonym modelem zwierzęcym (m.in. ogranicza niepotrzebny stres zwierząt). W dużym stopniu odzwierciedla on zmiany obserwowane u pacjentów nadużywających kokainę.

B. Brak jest wystarczających danych neurochemicznych o roli glutamatergicznych receptorów w wejściu w uzależnienie od kokainy oraz nawrót zachowań poszukiwawczych. Badania uzyskane w proponowanych doświadczeniach uzupełnią tę wiedzę.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na dostarczenie informacji na temat wpływu nawrotu do nałogu u szczurów oraz wykażą zmiany gęstości i ekspresji glutamatergicznych receptorów. Uzyskane wyniki mogą stać się punktem do ustalenia strategii w farmakoterapii uzależnienia kokainowego.

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 1815 cm²/18 cm wysokości (T4) po 5 osobników, natomiast w okresie rekonwalescencji oraz w czasie prowadzenia doświadczeń pojedynczo w kławkach o wymiarach 825 cm²/18 cm wysokości (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; w pomieszczeniu nie będą wykonywane pozostałe czynności (tj. iniekcje, eksperyment, uśmiercanie).
- 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 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 doświadczonego eksperymentatora lub osobę uczestniczącą.
- Przed operacją zwierzęta zostaną poddane anestezji z wykorzystaniem środka pozwalającego na iniekcję niewielkiej ilości płynu. 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 (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 12 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 mechanizmów działania badanych związków, stąd też nie ma możliwości zastąpienia zwierząt metodami alternatywnymi.