

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu . Ilościowa, jakościowa i czynnościowa analiza udziału feniksyny i jej kotransmiterów w unerwieniu narządów wewnętrznych ze szczególnym uwzględnieniem pęcherza moczowego u świni domowej

2. Czas trwania projektu 01.09.2020 – 30.06.2024

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) feniksyna, świnia domowa, pęcherz moczowy, zwoje czuciowe, zwoje autonomiczne

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.

Feniksyna jest nowoodkrytym neuropeptydem występującym między innymi u człowieka oraz u wielu gatunków zwierząt, także u świni. Wykryto ją w strukturach ośrodkowego układu nerwowego między innymi w podwzgórzu, przysadce mózgowej czy rdzeniu kręgowym, a także w obwodowym układzie nerwowym oraz w takich narządach jak serce, żołądek, śledziona, trzustka, płuca czy nerki. Ostatnie badania wykazały, że peptyd ten może odgrywać istotną rolę w regulacji wielu procesów fizjologicznych. Większość schorzeń pęcherza moczowego związana jest z nieprawidłowym działaniem układu nerwowego, a dokładne poznanie wzoru unerwienia, a co za tym idzie jego roli w regulacji funkcji pęcherza moczowego, może mieć istotne znaczenie w zrozumieniu mechanizmów

patologicznych prowadzących do dysfunkcji tego narządu. Badania wstępne przeprowadzone w Katedrze Fizjologii i Patofizjologii Człowieka UWM w Olsztynie na skrawkach mrożeniowych tkanek świni pochodzących z wcześniejszych doświadczeń wykazały obecność feniksyny we włóknach nerwowych na terenie ściany pęcherza moczowego oraz w obwodowym układzie nerwowym (zwoje czuciowe i współczulne). Dlatego też istotne wydaje się zbadanie rozmieszczenia oraz charakterystyki neurochemicznej włókien nerwowych zawierających feniksynę na terenie pęcherza moczowego, jakie są źródła jej pochodzenia oraz jaka jest jej funkcja fizjologiczna w regulacji pracy tego narządu. Planowane badania pozwolą po raz pierwszy odpowiedzieć na pytanie jak wygląda organizacja neurochemiczna włókien nerwowych zawierających feniksynę w pęcherzu moczowym, jakie są ewentualne źródła jej zaopatrzenia oraz jaka jest jej funkcja fizjologiczna w prawidłowej czynności tego narządu, co w przyszłości może być przydatne w poznaniu procesów patofizjologicznych schorzeń związanych z nieprawidłową pracą pęcherza moczowego.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Świnia domowa (*Sus scrofa domestica*); 12 sztuk

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

W dostępnej literaturze brak jest jakichkolwiek danych dotyczących wpływu feniksyny na regulację funkcji pęcherza moczowego. Nie ma żadnych informacji dotyczących zarówno występowania tego neuropeptydu we włóknach nerwowych w ścianie pęcherza moczowego jak i w neuronach czuciowych czy autonomicznych zaopatrujących ten narząd oraz jaką funkcję fizjologiczną może pełnić w regulacji pracy pęcherza moczowego zarówno u gryzoni laboratoryjnych, jak i u świni domowej. Ten ostatni gatunek uznawany jest za najlepszy model zwierzęcy człowieka. Jest to związane przede wszystkim ze znacznym podobieństwem zarówno anatomicznym jak i fizjologicznym budowy i funkcjonowania układu nerwowego oraz wybranych narządów wewnętrznych układu moczowego, rozrodczego oraz układu pokarmowego świni do organizmu człowieka. Badania wstępne przeprowadzone w Katedrze Fizjologii i Patofizjologii Człowieka UWM w Olsztynie na skrawkach mrożeniowych tkanek świni pochodzących z wcześniejszych doświadczeń wykazały obecność feniksyny we włóknach nerwowych

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

na terenie ściany pęcherza moczowego oraz w obwodowym układzie nerwowym (zwoje czuciowe i współczulne). Z tego względu przeprowadzenie planowanych badań pozwoli na uzyskanie odpowiedzi na pytanie w jaki sposób feniksyna uczestniczy w regulacji funkcji fizjologicznych pęcherza moczowego u świni. Wiedza ta pozwoli na lepsze zrozumienie mechanizmów nerwowych zaangażowanych w regulację fizjologicznych funkcji pęcherza moczowego. Ponieważ wiele zaburzeń pęcherza moczowego ma podłoże neurogenne, ważne jest, aby odkryć mechanizmy fizjologiczne regulujące funkcje tego narządu, co z kolei pozwoli lepiej zrozumieć mechanizmy patologiczne powodujące dysfunkcję pęcherza moczowego i pozwoli na lepsze i bardziej precyzyjne leczenie neurogennych zaburzeń pęcherza.

Zgodnie z założeniami planowanego doświadczenia przyjęty model zwierzęcy nie może być zastąpiony. Uwzględniona w eksperymencie liczba zwierząt jest niezbędna do przeprowadzenia doświadczenia i została określona zgodnie z zasadą ograniczenia. Poszczególne procedury i czynności opisane w projekcie zostały opracowane tak, aby zminimalizować cierpienie użytych zwierząt. Podczas trwania doświadczenia zwierzęta będą pod stałą opieką weterynaryjną.

Zasada zastąpienia

Zastosowanie zasady Replacment nie jest możliwe ze względu na konieczność przyżyciowego podania znacznika neuronalnego FB w wybrane okolice pęcherza moczowego, który następnie drogą wstecznego transportu neuronalnego jest transportowany do ciał komórek nerwowych zaopatrujących ten narząd. Transport ten jest możliwy tylko u żywych zwierząt. W celu sprawdzenia, które komórki nerwowe zostały wyznakowane zwierzę należy uśmiercić i pobrać struktury w których znajdują się wyznakowane komórki nerwowe (pęcherz moczowy, zwoje czuciowe i zwoje autonomiczne). Ze względu na fakt, iż założeniem doświadczenia było odniesienie uzyskanych wyników na modelu zwierzęcym do zależności występujących u człowieka, zaproponowany model badawczy jest najlepszy do przeprowadzenia doświadczenia. Niższe kręgowce nie mogą być uznane za dobry model zwierzęcy ze względu na znaczne rozbieżności zarówno anatomiczne jak i fizjologiczne w stosunku do człowieka. Natomiast świnia domowa jest gatunkiem zwierzęcia, uznawanym za jeden z lepszych, o ile nie najlepszy model zwierzęcy człowieka. Jest to związane przede wszystkim ze znacznie większym podobieństwem zarówno anatomicznym jak i fizjologicznym budowy i funkcjonowania wybranych narządów wewnętrznych układu rozrodczego, moczowego oraz układu pokarmowego świni do organizmu człowieka. Z tego też względu przeprowadzenie doświadczenia na tym gatunku zwierzęcia pozwoli na

pogłębienie wiedzy z zakresu fizjologii układu moczowego i na bardziej bezpośrednią ekstrapolację uzyskanych wyników na człowieka, niż w przypadku prowadzenia badań na niższych kręgowcach, czy nawet gryzoniach.

Zasada ograniczenia

W doświadczeniu została zaplanowana minimalna liczba zwierząt, która pozwala na uzyskanie statystycznie istotnych wyników. Zwierzęta zostaną podzielone na dwie grupy doświadczalne liczące każda po 6 zwierząt. Liczba ta została wybrana na podstawie analizy dostępnej literatury dotyczącej badań z wykorzystaniem świni domowej jako modelu doświadczalnego. Mniejsza liczba zwierząt nie zapewniłaby uzyskania istotności statystycznej.

Zasada udoskonalenia

Doświadczenie zostanie przeprowadzone w warunkach pozwalających na ograniczenie do minimum poziomu stresu i cierpienia zwierząt. Zwierzęta będą odizolowane od ciągłego hałasu, przebywać będą w wentylowanych pomieszczeniach 12-20xh gdzie zachowany jest cykl świetlny 12/12 umożliwiający zaspokojenie biologicznych potrzeb zwierząt. Wilgotność w pomieszczeniu będzie utrzymywana w zakresie 50-60%, a temperatura na poziomie 21°C. Zwierzęta podczas doświadczenia będą przetrzymywane grupowo (n=3) w kojcach uniemożliwiających zranienie zwierząt, gdzie pozbawiony przeszkód obszar podłoża dla każdej łóżki wynosić będzie co najmniej 0,5 m²/sztukę. Zwierzętarnia jest wyposażona w system wentylacji nawiewowo-wyciągowej oraz automatyczne poidła, które zapewniają ciągły dostęp do wody. Karmidła znajdujące się w pomieszczeniu są dostosowane do uwzględnionych w eksperymencie zwierząt. Zwierzęta będą karmione 2 razy dziennie. Świnie będą trzymane na matach, które będą ułatwiały czyszczenie koi, a jednocześnie nie będą powodowały urazów kończyn. Wzbogacenie środowiska będzie obejmowało danie skórzanych piłek i drewnianych klocków dostosowanych do wielkości zwierząt. Dodatkowo zwierzęta dostaną słomę w celu zaspokojenia naturalnej potrzeby żucia. Stan zwierząt będzie sprawdzany codziennie co najmniej dwa razy: oglądanie zwierząt, pomiar temperatury termometrem bezdotykowym, kontrola ilości wypitej wody oraz zjedzonej paszy, czyszczenie boksów. Po operacji do chwili całkowitego wybudzenia zwierząt będą one przetrzymywane w oddzielnym pomieszczeniu. Okrycie z koca termicznego i włączona lampa podczerwona pozwolą uchronić zwierzęta przed hipotermią. Z kolei monitorowanie temperatury ciała zwierzęcia za pomocą termometru bezdotykowego uchroni je przed ewentualnym

przeegrzaniem. Zwierzęta przez cały czas trwania doświadczenia będą pod opieką weterynaryjną. Po zakończeniu eksperymentu świnie zostaną poddane eutanazji w sposób humanitarny, poprzez przedawkowanie pentobarbitalu sodu. Uzyskane wyniki przyczynią się do pogłębienia wiedzy z zakresu fizjologii dotyczącej nerwowej kontroli pracy pęcherza moczowego.

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.