

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Ocena neurotoksyczności substancji psychoaktywnych z grupy pochodnych β -katynonu i metamfetaminy

2. Czas trwania projektu 1.01.2021 – 31.12.2024

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) procesy poznawcze, „dopalacze”, neurogeneza, hipokamp, katynony

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) A – badania podstawowe, [PB3] (układ nerwowy)

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.

Nowe związki psychoaktywne („dopalacze”) są obecne na rynku substancji odurzających od ponad dekady. Jedną z najbardziej popularnych grup „dopalaczy” są syntetyczne pochodne β -katynonu, wykazujące działanie podobne do metamfetaminy lub MDMA. Używanie syntetycznych pochodnych β -katynonu może doprowadzić do rozwoju uzależnienia i ciężkich zatrueń, niekiedy kończących się zgonem. Działanie neurotoksyczne metamfetaminy jest znane od dawna. Przejawia się ono m.in. zaburzeniami poznawczymi występującymi u narkomanów, a także u dzieci urodzonych przez uzależnione matki. Niewiele wiadomo na temat działania neurotoksycznego „dopalaczy”. Zaburzenia poznawcze wykazywano u dorosłych zwierząt laboratoryjnych po wielokrotnym podaniu pochodnych β -katynonu a także u uzależnionych osób. Obecnie brakuje rzetelnych informacji na temat możliwego szkodliwego działania tych substancji na rozwijający się ośrodkowy układ nerwowy.

W ramach obecnego projektu planuje się dokonać oceny procesów poznawczych dorosłych myszy

poddanych ekspozycji na syntetyczne pochodne β -katynonu w okresie rozwoju hipokampa, struktury odpowiedzialnej za pamięć i procesy poznawcze. U myszy rozwój tej struktury ma miejsce między 11 i 20 dniem po urodzeniu (PD11-20), co jest odpowiednikiem trzeciego trymestru ciąży u kobiet. W tym okresie rozwoju osobniczego myszy obu płci będą otrzymywały dwa razy dziennie iniekcje syntetycznych pochodnych β -katynonu lub metamfetaminy, zastosowanej jako związek porównawczy. Następnie przy pomocy testów behawioralnych zostaną ocenione zdolności poznawcze zwierząt. Na osobnej grupie zwierząt będą przeprowadzone badania mające na celu ocenę ekspresji białek związanych z proliferacją, migracją i różnicowaniem neuronów w hipokampie oraz wpływu związków na ilość nowopowstałych neuronów w hipokampie.

432 myszy wykorzystane do procedur 2-7 zostaną uśmiercone w celu pobrania mózgów do badań metodami biologii molekularnej (immunohistochemia i Western blot). Planowanych badań nie można wykonać przyżyciowo. 121 myszy rozrodowych (procedura 1) zostanie zaoferowanych do adopcji po zakończeniu badań za pośrednictwem organizacji LABRESCUE.

Realizacja projektu pomoże w ocenie ryzyka związanego z nadużywaniem substancji psychoaktywnych podczas ciąży, a także, w przyszłości może posłużyć do opracowania skutecznych strategii zapobiegania zaburzeniom kognitywnym u dzieci.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mysz domowa, szczep wsobny C57BL/6J – 121 dorosłych osobników oraz 552 noworodki.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Bieżący projekt uwzględnia zasady 3R, w szczególności:

Redukcję liczby zwierząt, które mają być wykorzystane w badaniach uzyskano stosując następujące podejścia.

- Wykorzystanie planu badania „*within-litter design*” polegającego na rozdzielaniu każdego miotu na grupy badane i kontrolne pozwala na znaczne ograniczenie ilości zwierząt w porównaniu do planu „*between-litter design*”, w którym całe mioty przydziela się do konkretnych grup. W pierwszym przypadku jednostką eksperymentalną jest pojedyncze zwierzę, a w drugim cały miot. W związku z tym, zastosowanie planowanego układu doświadczalnego pozwala na redukcję liczebności myszy o ok. 7,5 razy (średnia liczebność miotu myszy C57BL/6J).
- Analiza wyników badań behawioralnych jest planowana z zastosowaniem liniowego modelu mieszanego (linear mixed model) z uwzględnieniem czynników stałych (grupa, płeć) oraz losowych (miot), co daje większą moc statystyczną w porównaniu do zwykłej analizy wariancji (ANOVA).

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

- Planowane jest wykorzystanie tych samych myszy do wszystkich badań behawioralnych (procedury 3-5).
- Do oceny wpływu syntetycznych katynonów na neurogenezę i ekspresję związanych z nią białek w hipokampie u dorosłych myszy planuje się wykorzystanie zwierząt poddanych wcześniej testom behawioralnym.
- Ponadto, zastosowanie w badaniach myszy szczepu wsobnego (inbred) C57BL/6J skutkuje niską heterogennością wewnątrz grup (myszy te są w zasadzie klonami), a zatem do uzyskania istotnych statystycznie wyników konieczne jest użycie zdecydowanie mniejszej liczebności w porównaniu do myszy o szerokiej puli genetycznej (outbred), np. CD-1. Myszy będą pochodziły od renomowanego dostawcy, który regularnie przeprowadza badania genotypu zwierząt pod kątem ich zgodności z wzorcem.

Udoskonalenie – w bieżącym projekcie zastosowane będą metody behawioralne uznawane za „złoty standard” w ocenie zdolności poznawczych gryzoni. Podczas planowanych procedur zwierzętom nie zadaje się bólu, a stres jest ograniczony głównie do kilkusekundowego kontaktu z człowiekiem.

Zastąpienie – ze względu na charakter badania, nie jest możliwe przeprowadzenie go bez udziału żywych zwierząt.

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.