

Dr n. wet. M. Sobczak-Filipiak

Zakład Patologii Zwierząt Egzotycznych, Laboratoryjnych, Nieudomowionych i Ryb

Katedra Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej

Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie

## **PODSTAWY ANATOMII I FIZJOLOGII ZWIERZĄT DOŚWIADCZALNYCH. OZNAKI BÓLU I STRESU.**

### **Zwierzęta doświadczalne**

- ▶ Gryzonie, króliki – szybko dojrzewają, mają szybką przemianę materii, niewielkie rozmiary ciała, wysoką płodność/plenność (myszy, szczury – wiele młodych w miocie) – co zapewnia szybką wymianę pokoleń, ale – zwierzęta te szybko się starzeją
- ▶ Mają skłonności do różnych chorób – gatunkowe, lecz także – wynikające ze świadomej ingerencji człowieka: ukierunkowana hodowla, tworzenie zwierząt transgenicznych itp
- ▶ Mogą być modelami dla różnych zjawisk biologicznych
- ▶ U zwierząt młodych – niedojrzały układ immunologiczny; zwierzęta stare – spadek odporności, wolniejsza regeneracja

W badaniach naukowych spośród ssaków – *Mammalia* - wykorzystuje się

- ▶ Gryzonie – *Rodentia*
- ▶ Zajączaki – *Lagomorpha*
- ▶ Mięsożerne – *Carnivora*
- ▶ Naczelne – *Primates*

Bardzo zróżnicowana morfologia i fizjologia

(M.Skibniewski w „Zwierzęta laboratoryjne – patologia i użytkowanie”)

### **Uzębienie**

- ▶ Różna liczba pokoleń zębów

u psów i kotów zęby mleczne, zęby stałe;

u gryzoni tylko jedno pokolenie zębów

- ▶ Heterodontyzm: zęby sieczne – siekacze, kły, zęby przedtrzonowe, zęby trzonowe – różnią się kształtem, funkcją, lokalizacją w łuku zębowym (wzory zębowe)

- Zęby krótko- i długokoronowe (brachydontyczne i hypselodontyczne)

Krótkokoronowe u mięsożernych, świni (z wyjątkiem klów) i naczelnych

Długokoronowe – siekacze gryzoni, zajęczaków

### **Zęby długokoronowe (hypselodontyczne)**

- Mają obfitą miazgę zębową i rozległą jamę zęba
- Wzrost zębów jest ciągły – trwa przez całe życie zwierzęcia –

u szczura 2,2 mm tygodniowo siekacze szczęki i ok. 3 mm – siekacze żuchwy

- Zęby gryzoni i zajęczaków wymagają ciągłego ścierania
- Zwierzęta wymagają okresowej kontroli – nadmiernie wyrośnięte zęby mogą być przyczyną zahamowania pobierania pokarmu, wad zgryzu, powstawania ran w podniebieniu

### **Worki przyustne u chomików syryjskich (*Mesocricetus auratus*)**

- Symetryczne zachyłki jamy ustnej
- Duże: wypełnione pokarmem mogą sięgać w kierunku doogonowym do płaszczyzny, wyznaczonej przez łuki żebrowe, w kierunku dogrzbietowym – do okolicy międzyłopatkowej
- Służą do magazynowania i przenoszenia pokarmu

Problemy zdrowotne: zapalenia błony śluzowej worków przyustnych, ropnie z przetokami; wyciowanie worków

### **Żołądek**

- Jednokomorowy – prosty typu jelitowego (u psa, kota, królika, świnki morskiej) i złożony typu przełykowo-jelitowego (u myszy, szczura, świń i koniowatych) – podział oparty o charakter błony śluzowej

W typie złożonym wyróżniamy część bezgruczołową – dno i część gruczołową – trzon i odźwiernik, oddzielone fałdem błony śluzowej

- Wielokomorowy – u przeżuwaczy (trzy przedżołądki - żwacz, czepiec, księgi - i trawieniec), chomika (jeden przedżołądek)

### ***Nonemetica* – zwierzęta, które nie mogą wymiotować – np. szczur**

- Brak odpowiedniej synchronizacji ruchów przepony
- Niemożność dostatecznego otwarcia ujścia wpustowego żołądka
- Odmienność neuronalnej komunikacji pomiędzy jądrami pnia mózgu oraz trzewiami

Mechanizmy zabezpieczające przed zatruciem:

Wyostrome zmysły smaku i węchu

Spaczone łaknienie – geofagia – w odpowiedzi na obecność substancji drażniących/toksycznych w przewodzie pokarmowym

Jelito grube: jelito ślepe i okrężnica - budowa zależna od rodzaju spożywanego przez dany gatunek pokarmu

Największe modyfikacje dotyczą jelita ślepego – „komory fermentacyjnej”

- Mięsożerne mają najmniej rozbudowane jelito grube: niewielkie jelito ślepe i okrężnicę o średnicy zbliżonej do jelit cienkich (niewiele szersze)
- U gryzoni jelito ślepe ma znaczne rozmiary
- U królika jelito ślepe zajmuje ok. 1/3 zawartości jamy brzusznej

Różnice anatomiczne w obrębie narządów płciowych męskich, żeńskich i gruczołu mlekowego/sutkowego oraz łożyska

Ważne przy planowaniu doświadczeń

Ważne w ocenie stanu zdrowia –

- nowotwory gruczołu mlekowego/sutkowego;
- syndrom urologiczny

Budowa łożyska

- Podział anatomiczny
- Podział histologiczny – grubość bariery łożyskowej
  - Nabłonkowo-kosmówkowe – świnia
  - Łączno-kosmówkowe – przeżuwacze
  - Śródbłonkowo-kosmówkowe – mięsożerne
  - Krwio-kosmówkowe – naczelnne
  - Krwio-śródbłonkowe – gryzonie

Wraz ze wzrostem grubości bariery łożyskowej maleje jej przepuszczalność dla pewnych substancji czy np. przeciwciał matczyńskich

**Status higieniczny zwierząt**

Zwierzęta gnotobiotyczne

- ▶ Zwierzęta bezbakteryjne – germ free – GF
- ▶ Zwierzęta zasiedlone jednym, dwoma lub kilkoma szczepami mikroorganizmów – mikrobiologicznie zdefiniowane

#### Zwierzęta agnotobiotyczne

- ▶ Specific Pathogen Free – SPF – wolne od określonych, swoistych dla danego gatunku patogennych mikroorganizmów
- ▶ Konwencjonalne – CV – w zależności od klasy – wolne od patogenów nie przechodzących przez łożysko, wolne od patogenów epizootycznych swoistych dla danego gatunku, wolne od patogenów przenoszących się na ludzi

#### **Anatomia i fizjologia zwierząt gnotobiotycznych**

- Brak mikroflory powoduje niedorozwój układu chłonnego, gdyż nie ma stymulacji antygenowej, brak bodźców do stymulacji komórek immunokompetentnych
- Niższy poziom przeciwciał, niż u zwierząt konwencjonalnych
- Silniejsza odpowiedź immunologiczna w przypadku zakażenia
- Powiększenie jelita ślepego (myszy, szczury, króliki), zmniejszenie powierzchni i masy jelit cienkich (szczury, kurczęta)
- U szczurów gnotobiotycznych mniejsza masa serca i objętość krwi oraz mniejsze płuca
- Wyrzut minutowy serca mniejszy; szybkość przepływu krwi, perystaltyka jelit, czas wymiany nabłonka jelitowego – wolniejsze, niż u zwierząt konwencjonalnych
- Myszy i szczury rozwijają się i rosną podobnie, jak konwencjonalne, żyją dłużej
- Króliki i świnki morskie – rosną gorzej

(M.Katkiewicz, 1989)

#### **Parametry fizjologiczne i biologia gatunku - mysz**

Długość życia	1,5 - 3 lata
Masa ciała	samce 20 – 40g, samice 25 - 60g
Dojrzałość płciowa	samce 28-42(50) dni, samice 28-42(60) dni
Cykl płciowy	4 - 5 dni, poliestralny
Czas trwania rui	9-12 (3 – 5) godzin, owulacja spontaniczna

Czas trwania ciąży	19 – 21 dni
Liczba płodów	6-12 (10 – 12) sztuk o m.c. 1,0-1,5 g
Odsadzanie potomstwa	21 - 28 dni

Czas trwania życia myszy zależy od czynników środowiskowych i genetycznych

- 5-16 miesięcy np. CBA
- 24-36 miesięcy np. C57BL6

Rozmiary ciała myszy zależą od:

- Genotypu /Szczepu
- Płci
- Wiek
- Diety
- Liczby zwierząt w klatce
- Temperatury środowiska

Mysz cd.

Ciepłota ciała	37-39 (36,5 - 38,0) <sup>0</sup> C
Częstość oddechów	60 - 220/min
Tętno	320 - 780/ min, 70-80 ml krwi/kg m.c.
Średnie zapotrzebowanie na wodę	15 ml/100g mc

### **Parametry fizjologiczne i biologia gatunku - szczur**

Długość życia	2-3 (3 – 4) lata
Masa ciała	250-500 g samiec, 220-320 g samica (400-800g)
Dojrzałość płciowa	6-8 (8 – 10) tyg.
Cykl płciowy	4 - 5 dni, poliestralny
Czas trwania rui	7-20 (14) godzin, owulacja spontaniczna
Czas trwania ciąży	21-23 (20 – 22) dni
Liczba płodów	6 - 16 (10), noworodki o m.c. 5-7 g

Odsadzanie potomstwa	3 - 4 tyg.
Ciepłota ciała	37,5-39 (38,0) °C
Częstość oddechów	70-150/min
Pojemność płuc	1,5 - 1,8 ml
Tętno	250-500 (260 – 450)/ min
Objętość krwi	55-70 (50 ml)/kg
Średnie zapotrzebowanie na wodę	10 ml/100g

### **Parametry fizjologiczne i biologia gatunku - świnka morska/kawia domowa**

Długość życia:	4 - 8 lat
Dojrzałość płciowa: samiec-	9-10 tyg.
	samica - 4-6 tyg.
Masa ciała:	samiec 900-1800 (1000-1200) g
	samica 750-1000g
Liczba palców: k.p.	4
	k.m. 3
Liczba oddechów:	70-110 (90- 150)/ min
Tętno:	250-500 (190-300) / min
Objętość krwi:	55-70 ml/kg
Ciepłota ciała:	38,6°C (37,2-39,5)
Dzienne zapotrzebowanie na wodę:	10 ml/100g mc
Cykl płciowy:	14-18 (15 – 17) dni, poliestralny
Czas trwania rui:	8-11 (1 – 16) godzin, owulacja spontaniczna
Długość ciąży:	<b>59 - 72 dni</b>
Liczba płodów:	2-5 /1 - 6 (średnio 3-4)
Masa ciała przy urodzeniu:	<b>60 - 100 g</b>

Okres karmienia mlekiem matki: 2-3 tygodnie; szczyt laktacji – 5-8 dzień; mleko: wysoki poziom węglowodanów - 28%; zawartość tłuszczu -33%, białek -36%

### **Parametry fizjologiczne i biologia gatunku - królik**

Długość życia	4-7 lat samiec, 3-6 lat samica (6 -13 lat)
Masa ciała	2 – 5(6) kg
Ciepłota ciała	38,5 - 40°C
Liczba oddechów	30 - 60/min
Liczba uderzeń serca	180 - 325/ min
pH moczu	8,2 (zasadowe!)
Ilość pobieranej wody	50 -100ml/kg/24 h
Ilość wydalanego moczu	~ 130 ml/kg/24h
Potrzeby pokarmowe	50 -100 g/kg/24 h
Długość pasażu treści pokarmowej	4 - 5 h
Dojrzałość płciowa	samice 4 - 6 m-c; samce 5 -7 m-c
Ruja	12-16 dzień cyklu, poliestralne
Owulacja	prowokowana
Ciąża	29 - 33 dni
Odsadzanie potomstwa	4-6 tygodni
Masa przy urodzeniu	30-80 (40 – 100) g
Laktacja	4-7 tygodni

### **Zachowania zwierząt**

#### **Myszy**

Gatunek częściowo zaadaptowany do trzymania w niewoli, ale wciąż jeszcze widoczne są zachowania typowe dla zwierząt dzikich

Aktywne, nieustannie badają teren – w naturze poszukują żywności

Konstruują dopracowane gniazda lub kopią nory

Mają złożone struktury socjalne

W zwierzętarni decydują czynniki ekonomiczne i ergonomiczne – niski koszt, wiele zwierząt na małej przestrzeni, możliwość obserwacji zwierząt, możliwość utrzymania higieny

### **Agresja u myszy**

W opiece nad myszami istotna jest równowaga pomiędzy higieną w klatkach a poczuciem bezpieczeństwa u zwierząt

Wykazano, że materiał do budowy gniazda z feromonami zmniejsza agresję u zwierząt, za to trociny zabrudzone moczem i kałem – zwiększają

Materiał do budowy gniazda jest chętnie wykorzystywany przez myszy – które budują tunele, by się schronić lub ogrzać

Trociny bez olejków eterycznych i nie pylące

Nie wykorzystuje się higroskopijnego żwirku, bo może on spowodować odwodnienie zwierząt/novorodków

Silne reakcje lękowe u zwierząt, które nie mają możliwości schowania się

Ucieczka, gryzienie opiekunów, nagłe znieruchomienie – „aby nie były dostrzeżone przez drapieżnika”

Przyzwyczajanie do kontaktu z człowiekiem od młodego wieku dla redukcji stresu

Zwierzęta powinny się czuć bezpiecznie w zmiennym środowisku i móc je kontrolować

Zwierzęta laboratoryjne są trzymane w relatywnie ubogich w bodźce klatkach, mają nieograniczony dostęp do wody i żywności,

Skraca to życie poprzez przekarmienie i brak aktywności (Mattson, van de Weerd)

Dodatkowo, aby zredukować indywidualne różnice pomiędzy grupami zwierząt oraz pomiędzy badaniami, na ogół standaryzuje się warunki środowiskowe

Ubogie (w źródła bodźców i w relacje społeczne) warunki utrzymania wpływają na rozwój i funkcje mózgu oraz behavior zwierząt (Renner, Wurbel, Benefiel), są potencjalnie stresotwórcze

Środowisko, które ma nie stwarzać możliwości urazów, uszkodzeń – paradoksalnie może być źródłem problemów w zachowaniach zwierząt

### **Wzbogacenia**

Modyfikacje środowiska by zapewnić zwierzętom fizyczny i psychiczny dobrostan (Newberry, Baumans)



Dotyczy to możliwości stymulacji zmysłów (węch, słuch, wzrok), możliwości chowania się, gryzienia, budowania gniazd

Dla myszy np. skrzynki, tuby; ręczniki papierowe jako materiał na gniazda (van de Weerd)

Problemem może być reakcja zwierząt na zbyt wiele różnych bodźców – co zmienia wynik niektórych doświadczeń behawioralnych (Eskola); z drugiej strony – może być tak, że zwierzęta są bardziej kreatywne, gdyż bardziej stabilne emocjonalnie

W praktyce wykazano, że jest to zależne od typu badanego parametru, szczepu myszy, typów wzbogaceń

### **Mikro i makrośrodowisko**

Temperatura poniżej optymalnej skłania myszy do budowania gniazd oraz wzrostu tempa metabolizmu; ma to wpływ na rozród, masę narządów wewnętrznych, pobieranie wody i pokarmu, parametry hematologiczne; to zależy także od typu podłoża (Blom)

Zwierzęta nocne, preferują niskie natężenie światła; pobierają pokarm nocą

Wrażliwe na hałas

Niektóre zwierzęta dobrze się czują przy włączonym radiu; źle tolerują ultradźwięki, w tym – dźwięki elektroniczne (Clough, Sales)

Socjalne – raczej trzymane w grupach (jednopłciowych) – dla zmniejszenia agresji grupy muszą być stabilne

BALB/c samce są bardzo agresywne, jeśli są trzymane w grupie jednopłciowej

Przenoszenie myszy z grupy do grupy wywołuje silny stres, podobnie z trzymaniem ich pojedynczo lub w parach, oddzielonych siatką

### **Redukcja zachowań agresywnych**

Przenoszenie używanego materiału do budowy gniazda do czystej klatki

Trzymanie najwyżej trzech samców w jednej klatce

Nie mieszanie zwierząt w grupach (van Loo)

### **Stereotypie**

Powtarzalne, proste zachowania, pozbawione sensu (Baumans) –

- Krążenie po klatce
- Skakanie na ścianę klatki

czy stereotypia jest oznaką nieprawidłowego funkcjonowania mózgu czy też chronicznej frustracji (co jest poważnym problemem w zachowaniu dobrostanu zwierząt), jest ona związana z indywidualnymi reakcjami zwierzęcia na stres

Brak reakcji, a także minimalna odpowiedź zwierzęcia na bodźce mogą być uznane za nieprawidłowy behavior

### **„Dalila effect”**

#### **Myszy**

Zwierzęta aktywne nocą, socjalne, żyjące w grupach, ale

- BALB/c żyje „na powierzchni”, tutaj buduje gniazda i jest terytorialistką
- C57BL żyje w norach

Zwierzęta bardzo aktywne, które lubią się wspinać, badać teren, żerować – mało bodźców powoduje zachowania patologiczne kompensujące nudę

„barbering” „trimming” „trichotillomania” „Dalila effect” – wygryzanie sobie nawzajem sierści lub wąsów: czynniki genetyczne, socjalne – dominacja, zbytne zagęszczenie zwierząt w klatce, czynniki dietetyczne, nuda

C57BL6, B6, A2G

Sierść może być przycięta/wystrzyżona lub wyrwana

Dotyczy to włosów z części twarzowej głowy/wibrysy lub z tułowia (boki, grzbiet, brzuch)

#### **Szczur**

Bardzo dobrze rozwinięte zmysły: węch, słuch, dotyk

Behavior jest silnie determinowany przez sygnały pochodzące z narządów zmysłów

Samce rozpoznają status socjalny innych samców, stan samicy oraz pokrewieństwo (Beynon)

Porozumiewają się feromonami, w tym – alarmowymi (Dielenberg)

Wokalizują – szeroka gama dźwięków –

- 22kHz w sytuacjach stresowych ;
- 40kHz młode pozostawione bez opieki;
- 50kHz, modulowane, oznaczają pozytywny stan emocjonalny (Panksepp)

Receptory dotykowe – przede wszystkim na głowie.

Zwierzęta socjalne z określoną hierarchią w grupie – dominujący samiec

Bardzo wrażliwe na izolację; szczególnie istotne jest życie w grupie dla młodych w wieku 5-6 tyg. – wtedy dużo czasu spędzają na zabawach;

Dorośle szczury trzymane pojedynczo wykazują zwiększoną aktywność ruchową, trudności w uczeniu się, niepokój, agresję (Arakawa, Malkesman)

Izolacja w dorosłym wieku może wywołać niepokój, depresję, spowodowane zmianami w ośrodkowej neurotransmisji (serotonina), co nie poddaje się resocjalizacji (Maisonette, Silva)

Grupy nie powinny być mieszane: przenoszenie szczurów z grupy do grupy wywołuje silny stres; zmiana składu grupy prowokuje walki

Jako podłoże zwierzęta preferują stabilną podłogę, nie ruszt (Manser) i jako ściółkę materiał z dużymi cząstkami/włóknami (Bloom), którym można manipulować

Wzbogacenia – zwierzęta są odważniejsze, bardziej ruchliwe, mają grubszą warstwę korową mózgu i większą gęstość połączeń synaptycznych (Smith, Corrow)

Pobieranie pokarmu nocą – przede wszystkim na początku i na końcu okresu ciemności w klatce, zapotrzebowanie/upodobanie do pewnych składników diety zmienia się w cyklu dobowym; preferencje zależne także od środowiska (szczury uczą się od innych)

Koprofagia (szczury zjadają 10-50% swoich odchodów)

Rozpoznają opiekunów, na ogół jeśli są przyzwyczajone do kontaktów z człowiekiem, to łatwiej z nimi pracować

Przed wyjęciem z klatki należy się upewnić, że zwierzę nie śpi i nie przestraszy się niespodziewanego dotyku

Niektóre szczepy są agresywne i nerwowe, wtedy należy je podnosić i zdecydowanie unieruchamiać

Stereotypie u szczurów niezwykle rzadkie

Reakcje paniki lub nieprawidłowa/pasywna postawa

Sporadycznie – samce wyjątkowo agresywne wobec innych:

rany, zagryzanie słabszych, kanibalizm, wygryzanie sierści

## **Myszokoczek**

Z suchych stepów, z klimatu kontynentalnego - suchy klimat z ekstremalnymi temperaturami - w naturze tolerują szeroki zakres temperatur (0-35°C) w niskiej wilgotności i gdy jedzenie jest dostępne *ad libitum*

W laboratorium: 20-24° C; wilgotność 35-55% - zwykle niższa niż dla innych gryzoni

W wysokiej wilgotności splątana, potargana sierść i problemy z utrzymaniem higieny

Długość życia: 6 lat, zwykle – 3-4

Są one aktywne po świcie i o zmroku, ale także w trakcie dnia - u dzikiego myszokoczka jest to zależne od temperatury

Długość ciała 11-13,5 cm

Ogon – 9,5-12 cm, pokryty sierścią

Podeszwy stóp pokryte sierścią

Młode – 3-4g

Samiec 80-130g

Samica 60-100g

Myszokoczki

Żyją w grupach rodzinnych, a w niewoli: w grupach rodzinnych lub w parach, lub w grupach zwierząt tej samej płci (utworzonych przed osiągnięciem wieku 7-8 tygodni)

Kopią nory: w Mongolii nory są co 10-15m (14-504 nor na hektar)

Gruba warstwa ściółki - 5cm - do kopania oraz materiał na gniazdo

W klatce muszą mieć ciemne "gniazdo" (komora skrzynki 13x13x13cm) z ciemnym tunelem (15-20 cm, średnica 5 cm)

#### **Nieprawidłowe zachowanie:**

- nieustanne kopanie i gryzienie ścian klatki- kiedy nie mają gdzie się schować
- kanibalizm

Ziarnojady / roślinożerne, sporadycznie - owady i larwy

W naturze mogą zgromadzić do 20 kilogramów pokarmu na zimę

Jedzą cały czas – do 18 razy w ciągu dnia, więc jedzenie powinno być dostępne dla wszystkich zwierząt przez cały czas

Standardowa karma jak dla myszy, szczura lub chomika; granulat - ale tylko 4% tłuszczu w celu zapobiegania otyłości

W razie choroby i utraty apetytu - szybka utrata masy ciała - 10-15% w ciągu tygodnia

W nerkach - bardzo długie pętle Henle / czynność nerek jest przystosowana do znacznego zagęszczania moczu.

Napady padaczkowe, spowodowane przez podatność na niedokrwienie mózgu / niepełne koło Willisa – objawy pojawiają się od 2 miesiąca życia, w niektórych liniach hodowlanych w wieku 10 miesięcy u 80% zwierząt napady drgawkowe

### **Świnka morska/kawia domowa**

Żyją w grupach rodzinnych (harem): samiec, samice, młode – dobrze się czują w dużych grupach

u tego gatunku udomowienie nie spowodowało utraty/znaczej zmiany zachowań (Rood),

udomowione są mniej agresywne i chętne do okazywania zachowań społecznych (pielęgnacja sierści); inaczej kształtuje się hierarchia w grupie (świnki żyją zgodnie, samce i samice razem, podczas gdy u dzikich świnek była hierarchia pomiędzy młodymi samicami).

bardzo szerokie badania naukowe nt endokrynologii: zmian hormonalnych w stresie

Świnka morska/kawia domowa w stresie

- Zachowania agresywne
- Apatia
- Mniejsze spożycie pokarmu i wody
- Wokalizacja – gwizdy, ćwierkanie; napięcie mięśni całego ciała zwierzęcia

### **Chomik**

Samotnik

Buduje gniazdo /w norze

Nocny tryb życia

Samice bywają agresywne wobec samców

Wszystkożerne; koprofagi; gromadzą pokarm

W stresie – kanibalizm/kaleczenie, zjadanie młodych

### **Królik**

Dzikie króliki żyją w małych, stabilnych grupach na określonym terytorium (Parer); jest hierarchia w obrębie każdej z płci

Bronią swego terytorium, oznaczają je (specjalne gruczoły zapachowe) i patrolują granice

Kopią nory z kilkoma wyjściami

Wzrost liczby zwierząt oznacza gwałtowny wzrost agresji i toczonych walk

W badaniach behawioralnych stwierdzono około 20 różnych typów zachowań społecznych u królików

Walki pomiędzy samcami, więc konieczny jest monitoring grup męskich, a czasem – po 10 tyg. życia – izolacja pojedynczych sztuk

Zwierzę nocne – 44% czasu spędza na jedzeniu, 33% na odpoczynku, 13% w ruchu (Gibb)

Króliki mają system ostrzegania: tupią, pokazują spód ogona; złapane - piszczą

Jeśli nie ma czasu na ucieczkę – nieruchomieją

Szerokie pole widzenia (360 stopni), zmysł węchu i smaku dobrze rozwinięte, dobry słuch – uszy to 12% powierzchni ciała;

Przez cały czas/regularnie czyszczą sierść i rozciągają mięśnie

### **Zachowania nieprawidłowe u królików**

- W małych klatkach – gryzienie prętów, drapanie ścian
- Trzymane pojedynczo – mniejsza aktywność, słabsze znaczenie terenu
- Niepokój, nuda, frustracja
- Zgarbiona postawa, nieprawidłowa pielęgnacja sierści (zbyt słaba lub wrywanie i zjadanie sierści – powstają pilobezoary w przewodzie pokarmowym); otępienie
- Niepokój, panika
- Samice w stresie – kanibalizm, nie karmią młodych

### **Zwierzęta transgeniczne –**

w ich genomie znajduje się trwale zintegrowana sekwencja obcego DNA

### **Wykorzystanie zwierząt transgenicznych**

(K.Filimonow w "Zwierzęta laboratoryjne – patologia i użytkowanie")

- Badania nad determinacją płci
- Badania nad bezpłodnością
- Poprawa cech produkcyjnych zwierząt
- Zwiększenie odporności na pasożyty
- Produkcja związków ważnych z medycznego punktu widzenia – uzyskiwanie ich z mleka
- Otrzymywanie narządów do transplantacji – osłabienie bariery międzygatunkowej (alfa-1,3-galatozylotransferaza obecna w komórkach u świń, nie występuje u człowieka – *knock-out* genu tego enzymu)
- Modele osteoporozy, **cukrzycy**, choroby Alzheimera, dystrofii mięśni
- **Knock-out genu białka p53** – czynnik transkrypcyjny o własnościach supresora nowotworowego – badania nad chorobą nowotworową (zwierzęta te spontanicznie rozwijają bogate spektrum różnych typów nowotworów w różnych narządach wewnętrznych)

#### **Parametry fizjologiczne – ocena stanu zwierzęcia:**

- Wygląd zwierzęcia – ocena sierści, postawy, sposobu poruszania się, barwy skóry i błon śluzowych
- Zachowanie zwierzęcia
- Apetyt, pobieranie wody
- Wydalanie moczu i kału – oglądanie okolicy odbytu i krocza
- Ciepłota ciała, tętno, oddechy – w tym sposób oddychania

#### **Czynniki sprzyjające zachorowaniom zwierząt laboratoryjnych i doświadczalnych**

**Czynniki wewnętrzne** – gatunek/czynniki genetyczne, wiek zwierząt, płeć

**Czynniki środowiskowe** – nieprawidłowa temperatura, wilgotność, oświetlenie, wentylacja; hałas

**Czynniki żywieniowe** – źle zbilansowana dieta, nieprawidłowa jakość i ilość pokarmu i wody (wychudzenie/otyłość, odwodnienie)

**Czynniki związane z doświadczeniem** – stres, unieruchomienie, zabiegi chirurgiczne, leki i toksyny

#### **Ból – definicja**

Subiektywne przykre i negatywne wrażenie zmysłowe i emocjonalne powstające pod wpływem bodźców uszkodzających tkankę lub zagrażających ich uszkodzeniem

Pełni rolę ostrzegawczo-obronną

Utrzymujący się długo powoduje szereg trwałych zmian patofizjologicznych, w tym – w ośrodkowym układzie nerwowym

### **Niemówność komunikacji werbalnej nie wyklucza możliwości odczuwania bólu i konieczności jego zwalczania**

Progi bólowe różne u różnych osobników; wpływają na jego odczuwanie także czynniki fizyczne i psychiczne

(W.Grzegorzewski, w „Zwierzęta laboratoryjne – patologia i użytkowanie”)

### **Ból – podział i mediatorzy**

Organiczny i nieorganiczny

U zwierząt – organiczny – ma rozpoznawalną przyczynę anatomiczną lub narządową, tzn. pojawia się na skutek uszkodzenia tkanek

Pochodzenie z receptorów czuciowych lub bólowych powłok ciała – skóry, ale także mięśni, ścięgien, stawów, kości, narządów wewnętrznych (ból pochodzenia nocyreceptywnego)

Uszkodzenie ośrodkowego układu nerwowego (ból pochodzenia neuropatycznego)

Kwestionariusze oceny bólu dostosowane do gatunku zwierzęcia i do prowadzonego doświadczenia

(W.Grzegorzewski, w „Zwierzęta laboratoryjne – patologia i użytkowanie”)

### **Ból i stres – oznaki**

- Zmiany zachowania zwierzęcia
- Zmiany fizjologii oraz biochemii organizmu
- Zmiany w narządach wewnętrznych na poziomie makro - i mikroskopowym

### **Ból i stres - oznaki**

Zmiany aktywności ruchowej

Nieprawidłowa postawa

Nieprawidłowy sposób poruszania się



Wokalizacja

Izolowanie się od innych zwierząt w klatce

Brak zabiegów higienicznych

Ataki agresji lub apatia

Zmniejszenie pobierania pokarmu

Zmniejszenie masy ciała

Odchylenia od prawidłowej temperatury ciała - zwykle wzrost temperatury

Zmiana ilości oddechów na minutę oraz tętna - zwykle przyspieszenie

Wzrost ciśnienia krwi

Obniżona odporność

częstsze zachorowania

wolniejsze gojenie ran

dłuższy przebieg choroby i rekonwalescencji

Wyższy poziom hormonów stresu we krwi (np. kortyzol)

Powiększenie nadnerczy

Zahamowanie rozmnażania

Okaleczanie młodych

Kanibalizm

Brak opieki nad miotem

Samouszkodzenia

Wygryzanie sierści, wrywanie piór, stroszenie sierści

Stereotypie ruchowe

Porfiryny

**Stresory - przykłady**

**Czynniki środowiskowe**

nieprawidłowa temperatura, wilgotność, oświetlenie, wentylacja;

hałas;

niewłaściwe klatki;

nieprawidłowy dobór zwierząt w klatkach (ilość zwierząt, struktura grupy);

nieznajomość behawioru/fizjologii gatunku

**„Czynnik ludzki” – np.**

nowy opiekun,

opiekun w złej formie psychofizycznej,

brak przeszkolenia/doświadczenia personelu,

zmiana rutyny, niestosowanie się do procedur,

nieprawidłowe chwytanie i unieruchamianie zwierząt,

wykonywanie niektórych zabiegów w obecności innych zwierząt

**Czynnik eksperymentalny –**

ból i stres związane z zabiegiem chirurgicznym,

unieruchomienie,

podanie leku (*per os* lub w iniekcji),

nieprawidłowe stosowanie leków przeciwbólowych,

osiągnięcie/ przekraczanie „humanitarnych punktów krytycznych”,

wpływ czynnika testowanego,

uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego, niemożność poruszania się i pobierania wody oraz pokarmu,

nieprawidłowo przeprowadzona eutanazja

**Warunki bytowe**

Temperatura powietrza

Gryzonie 18-26 ° C

Króliki 16-22 ° C

Psy, koty, małpy 18-29 ° C

Zwierzęta gospodarskie 16-27 ° C

### **Temperatura**

Myszy - relatywnie duża powierzchnia ciała na gram masy

W pewnym tylko stopniu kontrolują warunki środowiskowe – budują gniazda, przytulają się

Ogon spełnia funkcje termoregulacyjne w niewielkim stopniu

Nie tolerują przegrzania, bo nie mają gruczołów potowych, nie mogą dyszeć, wydzielają ograniczoną ilość śliny

Podczas zabiegów chirurgicznych szybko ulegają wychłodzeniu

Upadki zwierząt w transporcie, spowodowane wychłodzeniem; odmrożenia kończyn – zwłaszcza myszy nagich w transporcie lotniczym

Są szczególnie wrażliwe na wahania temperatury

Wilgotność powietrza

gryznie	40-60%
króliki	30-70%
psy, koty, małpy	30-70%
zwierzęta gospodarskie	30-60%

### **Wilgotność**

Dla szczurów optymalna wilgotność ok. 50%

jeśli spada do 30% i niżej - nadmierne rogowacenie skóry ogona,

„ring tail” - zmiany martwicowe skóry ogona młodych zwierząt

mogą doprowadzić do autoamputacji

Zbyt duża wilgotność – namnażanie grzybów i bakterii, sklejanie się sierści

### **Oświetlenie**

Cykle świetlne, np. 12/12 w hodowlach myszy i szczurów

Świnki morskie nie wykazują takiego dziennie-nocnego trybu aktywności: po pewnym czasie aktywności odpoczywają 2-3 godziny

Szczepy albinotyczne szczurów BARDZO wrażliwe na światło – uszkodzenia siatkówki przy natężeniu >50 lux; optymalne 25 lux i klatki daleko od źródła światła

Podobna wrażliwość u albinotycznych myszy

## **Wentylacja**

Szczury wrażliwe na wysokie stężenie amoniaku – sprzyja rozwojowi zapalenia płuc przy zakażeniu *Mycoplasma pulmonis*

Feromony jako sposób komunikacji, szczególnie u myszy

Zapach wydzielin, wydaliny - w tym – moczu – dużo białek w moczu

wymiana powietrza (odpowiednio często)

bezgłówna

nawiew nie może być bezpośrednio skierowany na zwierzęta

## **Klatki**

Odpowiedniej wielkości dla danego gatunku i wieku zwierząt

Właściwa liczba osobników w jednej klatce – życie w grupie jest buforem sytuacji stresowych dla zwierząt, które „z natury” żyją w grupach, a dodatkowym źródłem stresu dla zwierząt, które są samotnikami

Odpowiednie podłoże – np. klatki z rusztem nie są odpowiednie dla świnek morskich, gdyż sprzyja to powstawaniu u nich zapalenia skóry i tkanki podskórnej podszwowej powierzchni kończyn

Higiena

## **Dodatki do pokarmu i wzbogacenia**

Dodatek wit. C 500 mg/l wody pitnej dla świnek – podawane co 24 godz. i siano - potrzebne włókna roślinne i do ścierania zębów

Myszy GF i mono-, di-, polibionty (gnotobionty) – dodatek witamin B i K, bo nie mają mikroflory jelitowej

Dla zwierząt za barierą pasze i ściółka autoklawowane

Trociny z odpowiednich gatunków drewna

Wzbogacenia – ich obecność pomaga kompensować nudę i zapobiega powstawaniu zachowań patologicznych

Stresory ogólnie

Gryzonie nie znoszą hałasu i silnych nowych zapachów

Świnki morskie – nie znoszą zmian w otoczeniu – trzeba je powoli przyzwyczajać do nowych rzeczy, jedzenia, misek

Transport – bardzo stresujący dla szczurów, potrzebny jest zwierzętom odpoczynek 1-3 tyg.

Unieruchomienie, podawanie leków podczas doświadczeń oraz zabiegi chirurgiczne są silnym źródłem stresu

### **Humanitarne punkty krytyczne**

Obiektywne i ściśle zdefiniowane, zanim rozpocznie się doświadczenie – należy przeszkolić personel w tym kierunku

Bazujące na etyce i 3R/refinement

Podjęcie wszystkich niezbędnych i uzasadnionych działań, aby zminimalizować cierpienie zwierząt przy jednoczesnym maksymalnym wykorzystaniu efektu badania naukowego

Śmierć zwierzęcia (rzadko jest akceptowana jako „endpoint”)/eutanazja w ściśle określonym momencie i potwierdzenie badaniem anatomopatologicznym

Kontrola zwierząt przynajmniej raz na dobę, dokonywana przez przeszkolony personel

Humanitarne punkty krytyczne - przykłady

W modelach neurologicznych/ ciężkich, np. niedokrwienia mózgu ogniskowego lub ogólnego, parkinsonizmu, płasawicy Huntingтона :

- Utrata odruchu przyjmowania korzystnej pozycji ciała
- Stan wyniszczenia lub przedłużający się stan ciężki
- Ataki padaczkowe
- Spadek masy ciała poniżej dopuszczalnej granicy
- Ataksja powyżej 48 godzin
- Przedłużające się objawy neurologiczne

W tych modelach - eutanazja zwierząt, jeśli ataki padaczkopodobne pojawiają się częściej, niż 3xtyg., brak reakcji na Diazepam, m.c. spada więcej, niż 25% masy wyjściowej (utrzymanie równowagi pomiędzy ogólnym stanem zwierząt a specyfiką patologii modelu ważniejsze, niż kryterium masy ciała)

(P.Sowiński w „Zwierzęta laboratoryjne – patologia i użytkowanie”)

W doświadczeniach onkologicznych:

- Średnica guza nowotworowego

*Piśmiennictwo:*

„Zwierzęta laboratoryjne – użytkowanie i patologia” – J. Szarek, M. Szweda, E. Strzyżewska, Wydawnictwo UWM Olsztyn 2013

„The UFAW Handbook of the Care and Management of Laboratory and other Research Animals” – R. Hubrecht, J. Kirkwood, eight edition, Wiley-Blackwell, 2010

„Pathology of Laboratory Rodents and Rabbits” – D. Percy, S. Barthold – third edition, Blackwell Publishing, 2007

„Zwierzęta laboratoryjne – choroby i użytkowanie” – M. Katkiewicz, Wydawnictwo SGGW-AR Warszawa 1989

„Atlas anatomii małych zwierząt laboratoryjnych” – P. Popesko, V. Rajtova, J. Horak – PWRiL, Warszawa 2010

Materiały kursu „Użytkowanie i patologia zwierząt laboratoryjnych”, UWM Olsztyn 2009-2012

Materiały szkolenia dla osób sprawujących opiekę nad zwierzętami doświadczalnymi - pod patronatem KKE Warszawa 2014