

## NEWSLETTER ΕΕΒΕΖΕ

# Ελληνική Εταιρεία Βιοϊατρικής Έρευνας & Ζώων Εργαστηρίου

Τεύχος 12, Ιανουάριος 2015



### Σε αυτό το τεύχος:

Προμετωπίδα

Επιστημονικά θέματα

Εκδηλώσεις

Περιοδικά για Ζώα  
Εργαστηρίου

Αγαπητά μέλη και φίλοι της Ε.Ε.Β.Ε.Ζ.Ε.

Η έναρξη κάθε έτους αποτελεί ευκαιρία για ένα γρήγορο απολογισμό. Το 2014 ήταν ιδιαίτερα δημιουργικό για την Εταιρεία μας, με αποκορύφωμα τη συνδιοργάνωση του, κατά κοινή ομολογία, πετυχημένου Πανευρωπαϊκού Συνεδρίου των Ευρωπαίων Κτηνιάτρων Ζώων Εργαστηρίου, το Σεπτέμβριο. Ευελπιστούμε ότι η δυναμική ώθηση που δημιουργήθηκε θα συνεχιστεί και το 2015. Θα σας κρατάμε ενήμερους και προσβλέπουμε πάντα στη δική σας ενεργή συμμετοχή.

Ευχόμαστε σε όλους ένα χαρούμενο, ευτυχισμένο και δημιουργικό νέο έτος.



Παρατηρήσεις, επισημάνσεις και κείμενα μπορείτε να τα στέλνετε στην ηλεκτρονική διεύθυνση [Paulveterin@yahoo.com](mailto:Paulveterin@yahoo.com), για δημοσίευση στα επόμενα Newsletter της εταιρείας.

Για όσους από τους αναγνώστες ενδιαφέρονται να γίνουν μέλη της ΕΕΒΕΖΕ, η εγγραφή είναι δυνατή μετά τη συμπλήρωση της σχετικής αίτησης που υπάρχει στο τέλος του Newsletter. Είναι απαραίτητη η αποστολή βιογραφικού σημειώματος καθώς και η πρόταση της υποψηφιότητας από τρία μέλη της Εταιρείας. Το κόστος εγγραφής είναι 20 € και η ετήσια συνδρομή για το 2015 παραμένει στα 20€.

## ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΘΕΜΑΤΑ

### Χρησιμοποίηση συμπεριφορικών δοκιμασιών σε μύες και επίμυες για τον έλεγχο διαφορετικών εγκεφαλικών λειτουργιών

Πολύ συχνά στην βιοϊατρική έρευνα και ειδικότερα στον τομέα των νευροεπιστημών, είναι απαραίτητο να αξιολογούνται ορισμένα συμπεριφορικά χαρακτηριστικά όπως η ικανότητα μάθησης, η βραχυ- και μακροπρόθεσμη μνήμη, η κινητικότητα, η συνέργεια των κινήσεων, ο προσανατολισμός στο χώρο κ.α. Ιδιαίτερη σημασία αποκτά η εφαρμογή συμπεριφορικών δοκιμασιών σε μύες και επίμυες, με τις οποίες είναι δυνατό να εκτιμηθούν τα ανωτέρω χαρακτηριστικά σε μελέτες νευροτοξικότητας, στη διερεύνηση της επίδρασης γενετικών παρεμβάσεων ή στην έρευνα για την νευροπροστατευτική δράση ουσιών.

Θα παρουσιασθούν εν συνεχεία τρεις συμπεριφορικές δοκιμασίες που διενεργούνται σε μύες/επίμυες, οι οποίες σχετίζονται με τη λειτουργία της παρεγκεφαλίδας.

#### **Ανάλυση προτύπου βαδίσσεως (Footprint Pattern)**

Η εκτίμηση της παρεγκεφαλιδικής δυσλειτουργίας μπορεί να αξιολογηθεί κατόπιν ανάλυσης στο πρότυπο βαδίσσεως κατά την οποία διενεργείται ανάλυση των αποτυπωμάτων των πελμάτων των μυών /επίμυων.

Τα πέλματα των οπισθίων άκρων των μυών/επίμυων χρωματίζονται με μαύρη σινική μελάνη. Στη συνέχεια τα ζώα

τοποθετούνται, ένα κάθε φορά, στην αρχή του πειραματικού διαδρόμου. Ο τελευταίος αποτελείται από ένα χάρτινο ορθογώνιο παραλληλεπίπεδο. Το δάπεδο του διαδρόμου είναι καλυμμένο με λευκό χαρτί ενώ το αντίπλευρο άκρο της διαδρομής είναι καλυμμένο στην οροφή και σκοτεινό ώστε τα ζώα να προσελκυσθούν και να προχωρήσουν προς τη σκοτεινή πλευρά. Μετά τη διάβαση του κάθε ζώου, οι κόλλες χαρτιού συλλέγονται για να εκτιμηθούν τα αποτυπώματα των πελμάτων (Εικόνα 1). Οι εικόνες ψηφιοποιούνται με τη βοήθεια σαρωτή και αναλύονται με το κατάλληλο πρόγραμμα. Οι ακόλουθες παράμετροι είναι δυνατό να εκτιμηθούν: α) εύρος βήματος (οριζόντια απόσταση μεταξύ των οπίσθιων άκρων), και β) μήκος βήματος (η απόσταση μεταξύ δυο διαδοχικών θέσεων του κάθε οπίσθιου άκρου που αντιστοιχεί σε ένα βηματισμό).



Εικόνα 1. Ανάλυση προτύπου βαδίσσεως (Footprint Pattern)

#### **Δοκιμασία περιστρεφόμενου κυλίνδρου (Rotarod Test)**

Η δοκιμασία του περιστρεφόμενου κυλίνδρου ελέγχει την παρεγκεφαλιδική

συνέργεια των κινήσεων που είναι απαραίτητη ώστε τα ζώα να παραμείνουν πάνω σε ένα κύλινδρο κατά τη διάρκεια της περιστροφής και να αποφευχθεί η πτώση. Το ζώο τοποθετείται σε μια περιοχή αφοριζόμενη από δυο κυκλικά διαφράγματα, που απέχουν μεταξύ τους κάποια εκατοστά ώστε ο μύς/επίμυς να μην κινείται κατά μήκος, αλλά μόνο κάθετα στον επιμήκη άξονα του κυλίνδρου (Εικόνα 2).

Η διαδικασία περιλαμβάνει αρκετές επιμέρους δοκιμασίες (trials) κατά τη διάρκεια των οποίων το ζώο τοποθετείται στον περιστρεφόμενο κύλινδρο με προσανατολισμό αντίθετο με την φορά περιστροφής, έτσι ώστε να είναι υποχρεωμένο να βαδίζει προς τα εμπρός για να αποφύγει την πτώση.



**Εικόνα 2.** Συσκευή εκτέλεσης της δοκιμασίας περιστρεφόμενου κυλίνδρου (Rotarod Test)

Ο περιστρεφόμενος κύλινδρος κινείται με διαφορετικές ταχύτητες ανάλογα με τη χρονική στιγμή. Το ζώο καταφέρει να παραμείνει πάνω στον κύλινδρο κινούμενο προς τα εμπρός ή προς τα πίσω ή αρπάζοντας τον κύλινδρο ώστε να αποφύγει την πτώση. Ο μέγιστος χρόνος παραμονής κάθε ζώου στον κύλινδρο είναι 90 sec, οπότε η δοκιμασία

θεωρείται επιτυχής. Αντίθετα όταν το ζώο πέσει νωρίτερα η δοκιμασία τερματίζεται.

Η δοκιμή καταγράφεται με κάμερα. Από τη βιντεοσκόπηση, μπορεί να μετρηθεί ο χρόνος βάρδισης πάνω στον κύλινδρο και να υπολογισθεί ο λόγος του χρόνου βάρδισης/ολικό χρόνο παραμονής πάνω στον κύλινδρο. Ο χρόνος βάρδισης είναι διαφορετικός από το συνολικό χρόνο παραμονής στον κύλινδρο, γιατί ορισμένα ζώα παρότι δε μπορούν να συντονίσουν ορθά τις κινήσεις τους, αποφεύγουν ωστόσο την πτώση κρατώντας σφικτά τον κύλινδρο και μένοντας απλά παθητικά κρεμασμένα χωρίς να κινούνται.

#### **Δοκιμασία ανοικτού πεδίου (Open Field Test)**

Κατά τη δοκιμασία του ανοικτού πεδίου το ζώο αφήνεται να εξερευνήσει έναν καινούριο χώρο για ορισμένο χρονικό διάστημα. Η καταγραφή της συμπεριφοράς του ζώου δίνει πληροφορίες για την κινητικότητα (standing/moving), για την ικανότητα εξερεύνησης (sniffing και rearing), καθώς και για τη συναισθηματική κατάσταση του, αξιολογώντας συμπεριφορές που σχετίζονται με το στρες (anxiety/stress-related behaviors).

Μια μη αυτοματοποιημένη μέθοδος προσέγγισης της κινητικής δραστηριότητας είναι η ακόλουθη: ο χώρος της δοκιμασίας (ανοιχτό πεδίο) αποτελείται από ένα διαφανή κλωβό από plexyglass ανοικτό στο επάνω μέρος (Εικόνα 3). Τα ζώα τοποθετούνται ανά ένα στο κέντρο του κλωβού επί 5 λεπτά και η συμπεριφορά τους βιντεοσκοπείται και ταυτόχρονα καταγράφεται προσεκτικά από έναν παρατηρητή κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας σε Η/Υ.



**Εικόνα 3.** Διάταξη για την πραγματοποίηση της δοκιμασίας ανοικτού πεδίου (Open Field Test)

Πιο συγκεκριμένα, ο παρατηρητής κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας καταγράφει τις ακόλουθες συμπεριφορές :

**Κίνηση (moving):** όταν το ζώο τρέχει ή περπατάει και επομένως η κίνηση αφορά και τα τέσσερα άκρα του.

**Ακίνησία (standing):** όταν το ζώο στέκεται ακίνητο.

**Όσφρηση (sniffing):** όταν το ζώο οσμίζεται τον καινούριο χώρο και το ρύγχος του κατευθύνεται είτε στο πάτωμα του κλωβιού είτε στον αέρα, ενώ οι μύστακες βρίσκονται σε διαρκή κίνηση.

**Ανόρθωση (rearing):** όταν το ζώο ανασηκώνεται σε κατακόρυφη στάση, με τα δυο πίσω άκρα του να βρίσκονται στο πάτωμα του κλωβού και τα δυο μπροστινά να στηρίζονται στα τοιχώματα του κλωβού ή να είναι σταθερά στο κέντρο του κλωβού, και το ζώο να οσμίζεται τον αέρα.

**Αυτοπεριποίηση (grooming) :** όταν το ζώο περιποιείται τον εαυτό του και καθαρίζεται.

Η καταγραφή και ταξινόμηση των παραπάνω συμπεριφορικών αντιδράσεων πραγματοποιείται σε Η/Υ με τη βοήθεια ειδικού προγράμματος καταγραφής συμπεριφοράς. Στο τέλος κάθε δοκιμασίας το πρόγραμμα έχει τη δυνατότητα υπολογισμού της συνολικής διάρκειας, της συχνότητας καθώς και της μέσης διάρκειας κάθε συμπεριφερσιολογικής παραμέτρου ξεχωριστά.

### Συμπερασματικά

Λαμβάνοντας υπόψη ότι τα αποτελέσματα των συμπεριφορικών δοκιμασιών μπορεί να επηρεάζονται τόσο από τους ίδιους τους ερευνητές που τις διενεργούν όσο και από περιβαλλοντικούς παράγοντες, θα πρέπει πάντα να δίνεται ιδιαίτερη προσοχή κατά τον σχεδιασμό και επικύρωση μιας διαδικασίας. Η συνεχής τεχνολογική ανάπτυξη έχει οδηγήσει στη δημιουργία νέων αυτοματοποιημένων συμπεριφορικών δοκιμασιών οι οποίες μάλιστα λαμβάνουν χώρα μέσα στους κλωβούς διαβίωσης των μυών/επίμυων. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η αυτοματοποιημένη αξιολόγηση της αυτοπεριποίησης «grooming» κατά την οποία οι δονήσεις που παράγονται, ανιχνεύονται από έναν πολύ ευαίσθητο αισθητήρα και εν συνεχεία μεταφράζονται σε πληροφορίες με τη χρήση εξελιγμένων αλγορίθμων.

Σε κάθε περίπτωση η επιλογή μιας δοκιμασίας δεν εξαρτάται μόνο από τους στόχους της έρευνας αλλά θα πρέπει να δίνεται ιδιαίτερη σημασία στην ευκολία καταγραφής και αξιολόγησης των αποτελεσμάτων και φυσικά στην ηθική αντιμετώπιση των ζώων. Λαμβάνοντας υπόψη ότι το σύνολο των εγκεφαλικών λειτουργιών δεν είναι πλήρως κατανοητό

και ότι οι θεραπευτικές προσεγγίσεις των νευρολογικών δυσλειτουργιών είναι ακόμα περιορισμένες, οι συμπεριφορικές δοκιμασίες σε τρωκτικά θα συνεχίσουν να εξελίσσονται και να αποτελούν αναπόσπαστο τμήμα των νευροεπιστημών στο εγγύς μέλλον.

**Συμπεριφορικές δοκιμασίες που βρίσκουν εφαρμογή στη βιοϊατρική έρευνα**

| Όνομασία Δοκιμασίας   | Λειτουργία που ελέγχεται                          |
|---|---|
| Open Field test- Δοκιμασία Ανοικτού πεδίου                  | Κινητική δραστηριότητα, αγωνία, εξοικείωση        |
| Rotarod test- Δοκιμασία περιστρεφόμενου κυλίνδρου           | Συνέργεια κινήσεων, ισορροπία, αταξία             |
| Morris Water Maze- Υδάτινος λαβύρινθος κατά Morris          | Χωρική μάθηση, μνήμη                              |
| Forced Swim test- Εξαναγκασμένη κολύμβηση                   | Ένδειξη συναισθηματικής αποδιοργάνωσης- αστάθειας |
| Elevated maze- Δοκιμασία υπερυψωμένου λαβυρίνθου            | Μέγεθος αγωνίας- stress                           |
| Tail pressure test- Δοκιμασία πίεσης της ουράς              | Αντοχή στον πόνο                                  |
| Object recognition task- Δοκιμασία αναγνώρισης αντικειμένου | Μνήμη αναγνώρισης                                 |

Δρ. Λασκαρίνα-Μαρία Κορού

Κτηνίατρος, Εργαστήριο Πειραματικής Χειρουργικής και Χειρουργικής Ερεύνης «Ν.Σ. Χρηστέας», Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

**ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ**



**British Society of Toxicological Pathology**

Ακολουθεί ημερολόγιο επιστημονικών εκδηλώσεων που διοργανώνονται από τη Βρετανική Εταιρεία Τοξικολογικής Παθολογίας:

**Continuing Education Symposium – Liver**  
Τετάρτη 25 - Παρασκευή 27 Μαρτίου 2015 (date to be confirmed) - Cambridge, Ηνωμένο Βασίλειο

Email: [bstpoffice@aol.com](mailto:bstpoffice@aol.com) ή επισκεφθείτε την ιστοσελίδα [www.bstp.org.uk](http://www.bstp.org.uk)

**Joint ESTP/BSTP Meeting**  
22 - 25 Σεπτεμβρίου 2015 (date to be confirmed) – Πανεπιστήμιο του Surrey, Ηνωμένο Βασίλειο

Email: [bstpoffice@aol.com](mailto:bstpoffice@aol.com) ή επισκεφθείτε την ιστοσελίδα [www.bstp.org.uk](http://www.bstp.org.uk)

**Continuing Education Symposium – Respiratory System**

Τετάρτη 9 - Παρασκευή 11 Δεκεμβρίου 2015 (date to be confirmed) - Cambridge, Ηνωμένο Βασίλειο

Email: [bstpoffice@aol.com](mailto:bstpoffice@aol.com) ή επισκεφθείτε την ιστοσελίδα [www.bstp.org.uk](http://www.bstp.org.uk)



Στις 19-22 Ιουλίου του 2015 θα πραγματοποιηθεί στη Νάντη της Γαλλίας συνέδριο που αφορά στην Κτηνιατρική Φαρμακολογία και Τοξικολογία. Για περισσότερες πληροφορίες επισκεφθείτε την ιστοσελίδα:

<http://www.alphavisa.com/eavpt/2015/>

**ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ ΠΟΥ ΑΦΟΡΟΥΝ ΣΤΗΝ  
ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΤΩΝ ΖΩΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ**

Scandinavian Journal of Laboratory  
Animal Science [www.scandlas.org](http://www.scandlas.org)

Comparative Medicine [www.aalas.org](http://www.aalas.org)

Journal of the American Association of  
Laboratory Animal Science [www.aalas.org](http://www.aalas.org)

Experimental Animals (Journal of the  
Japanese Association for Laboratory  
Animal Science)

[http://wwwsoc.nii.ac.jp/jalas/english/en\\_journal.html](http://wwwsoc.nii.ac.jp/jalas/english/en_journal.html)

Laboratory Animals  
<http://la.rsmjournals.com>

Lab Animal Europe (Δωρεάν εγγραφή)  
<http://www.labanimaleurope.eu/>

ALN Magazine και ALN World (Δωρεάν  
εγγραφή) <http://www.alnmag.com>

**Επιμέλεια Σύνταξης:**

Λελόβας Παύλος

Μπαλάφας Ευάγγελος



*Τα άρθρα που δημοσιεύονται στο Newsletter εκφράζουν τις απόψεις των συγγραφέων τους.*

ΠΡΟΣ ΤΗΝ  
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ  
ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΗΣ ΕΡΕΥΝΑΣ &  
ΖΩΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ

ΑΙΤΗΣΗ ΕΓΓΡΑΦΗΣ ΝΕΟΥ ΜΕΛΟΥΣ

Όνομα:.....

Επώνυμο:.....

Ιδιότητα:.....

Αντικείμενο ενασχόλησης:

.....  
.....  
.....  
.....

Διεύθυνση εργασίας: .....

Διεύθυνση οικίας:.....

Τηλέφωνο επικοινωνίας: .....

Fax : .....

E-mail: .....

Επιθυμώ να εγγραφώ μέλος στην Ελληνική Εταιρεία Βιοϊατρικής Έρευνας και Ζώων Εργαστηρίου.

Ημερομηνία .....

Ο/Η  
Αιτών/ούσα

(\* ) Η αίτηση μπορεί να αποσταλεί στην ηλεκτρονική διεύθυνση [secretariat@hsblas.gr](mailto:secretariat@hsblas.gr)