KOSMOS
PROBLEMY NAUK BIOLOGICZNYCH

Tom 70 2021
Numer 4 (333)
Strony 721–730

Polskie Towarzystwo Przyrodników im. Kopernika

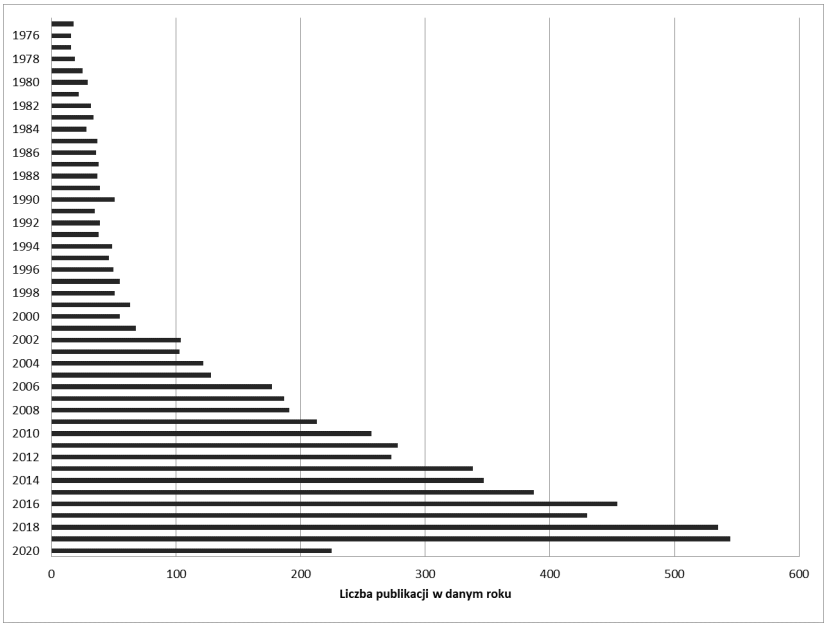
DOMINIKA BIAŁA, PAULINA KOWALCZYK

Zakład Neuropsychofarmakologii
Instytut Farmakologii im. Jerzego Maja PAN
Smętna 12, 31-343 Kraków
E-mail: biala@if-pan.krakow.pl

UROZMAICENIE ŚRODOWISKA MYSZY I SZCZURÓW W BADANIACH NAUKOWYCH*

WSTĘP

Pomimo wieloletnich prób i starań, nadal nie udało się całkowicie zastąpić doświadczalnych modeli zwierzęcych w badaniach naukowych, w tym w badaniach nad chorobami neurodegeneracyjnymi. Badania *in vitro,* wykorzystujące modele komórkowe czy też inne metody alternatywne, takie jak zaawansowane symulacje komputerowe, nie umożliwiają w pełni poznania i zrozumienia badanych schorzeń. Badania *in vivo,* wykorzystujące modele zwierzęce, stanowią istotne narzędzie poznawcze w badaniach mechanizmów czy terapii w różnych stanach patologicznych oraz umożliwiają zbadanie skomplikowanych i wzajemnie powiązanych ze sobą układów, których nie zastąpi ża-



Ryc. 1. Graficzne zestawienie liczby publikacji powiązanych z urozmaiceniem środowiska dla gryzoni laboratoryjnych w danym roku. Dane uzyskano przeszukując bazę PubMed z zastosowaniem frazy „environmental enrichment for rodents".

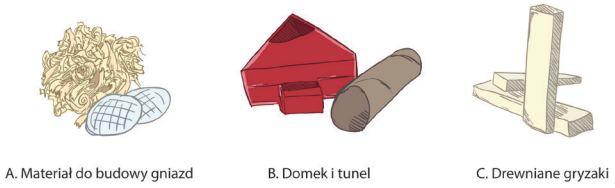
Słowa kluczowe: choroby neurodegeneracyjne, mysz, szczur, urozmaicenie środowiska, zwierzęta laboratoryjne

*Praca powstała w ramach finansowania z funduszy statutowych Zakładu Neuropsychofarmakologii, Instytutu Farmakologii im. Jerzego Maja Polskiej Akademii Nauk w Krakowie.

den model *in vitro*. Od momentu pojawienia się pierwszych eksperymentów naukowych z udziałem zwierząt laboratoryjnych, środowisko w jakim żyją zwierzęta, ulegało ciągłym zmianom. Początkowo, wdrożone zasady miały na celu standaryzację warunków hodowlanych, prowadząc do otrzymywania bardziej powtarzalnych wyników badań. Niestety standaryzacja warunków hodowlanych ograniczyła występowanie naturalnych zachowań zwierząt takich jak: eksploracja, ukrywanie się, poszukiwanie, obgryzanie czy budowanie gniazd, obecnych w ich naturalnym środowisku (JENNINGS i współaut. 1998, OLSSON i DAHLBORN 2002). W celu odwzorowania bardziej „naturalnego środowiska" zaczęto wprowadzać do klatek różnego rodzaju wzbogacenia środowiskowe. Badania na zwierzętach regulowane są odpowiednimi normami prawnymi i przepisami. Liczba prac badawczych poruszających temat stosowania urozmaiceń środowiska dla zwierząt laboratoryjnych, w szczególności gryzoni, znacząco rośnie z roku na rok (Ryc. 1). Prowadzone badania nad wpływem stosowania urozmaiconego środowiska (ang. enriched environment, EE) wskazują na występowanie zależności pomiędzy warunkami, w jakich żyją zwierzęta a ich dobrostanem oraz jakością uzyskiwanych wyników. Przedstawiona praca ma na celu przybliżenie obecnego stanu wiedzy na temat wpływu EE na funkcjonowanie zwierząt laboratoryjnych oraz na wyniki badań nad zaburzeniami neurologicznymi.

WARUNKI STANDARDOWE

Gryzonie laboratoryjne, takie jak myszy czy szczury, standardowo hodowane są w klatkach wyścielonych trocinami lub granulatem kukurydzianym. Stosunkowo od niedawna, tj. w Unii Europejskiej od 2010 r., a w Polsce od 2015 r., stosuje się dodatkowo „wzbogacenie warunków bytowania zwierząt w sposób odpowiedni dla danego gatunku, (...) pozwalające im na obniżenie poziomu stresu, w tym umożliwiające częściową kontrolę i dokonywanie wyboru środowiska" (Dz.U. 2016 poz. 2139). W tym celu w klatkach umieszcza się np. materiał do budowy gniazd i/lub schronienie w postaci domku/zadaszenia, oraz drewniane gryzaki (Ryc. 2). Pożywienie podawane jest w formie zbitych peletek i wraz z wodą dostarczane *ad libitum* (bez ograniczeń). Urozmaiceniem środowiska można nazwać każdą manipulację środowiskiem w jakim żyją zwierzęta, zaprojektowaną tak, by promować stymulację fizyczną, kognitywną, sensoryczną i socjalną. W pracach badawczych nad wpływem EE z udziałem myszy czy szczurów najczęściej stosowanymi urozmaiceniami są: większe klatki zawierające gryzaki, zabawki, tunele, materiał do gnieżdżenia, domki czy kołowrotki (CLEMENSON i współaut. 2018). NITHIANANTHARAJAH i HANNAN (2006) sugerują, że głównym elementem wzbogacania środowiska jest jego złożoność, zapewniająca szereg możliwości stymulacji w obszarach układu wzrokowego, węchowego i somatosensorycznego. Pozytywny wpływ EE, jako pierwszy opisał w 1947 r. Donald HEBB, który zauważył, że szczury przyniesione z laboratorium i hodowane w domu, w bardziej złożonych i urozmaiconych warunkach, wykazywały większe umiejętności poznawcze niż szczury pozostawione w laboratorium. W późniejszych badaniach wykazano, że w porównaniu do grupy kontrolnej, zwierzęta hodowane w klatkach zawierających różnego typu zabawki, tunele i kołowrotek wykazują istotne neurochemiczne i anatomiczne zmiany w korze mózgu (DIAMOND i współaut. 1966, BENNETT i współaut. 1969). Zatem, środowisko w jakim żyją zwierzęta, ma istotny wpływ nie tylko na ich dobrostan, ale również bezpośrednio na wyniki badań naukowych.



Ryc. 2. Graficzne przedstawienie przykładowych urozmaiceń środowiska dla gryzoni laboratoryjnych.

REGULACJE PRAWNE

W odpowiedzi na rozwój badań naukowych z udziałem zwierząt w Europie, parlament brytyjski, jako pierwszy na świecie, w 1876 r. ustanowił „Cruelty to Animals Act", regulujący zasady prowadzenia eksperymentów na zwierzętach. Ważnym momentem w historii zwierząt laboratoryjnych była również opublikowana w 1959 r. przez Williama RUSSELLA i Rexa BURCHA książka na temat stosowania zasad 3R (REDUCE – zmniejszenie liczby zwierząt w eksperymencie, REPLACE – zastąpienie zwierząt innym modelem badawczym, REFINE – udoskonalenie protokołu badawczego). W książce tej autorzy skupili uwagę na zachowaniu szeroko pojętego dobrostanu zwierząt laboratoryjnych i możliwościach poprawy ich życia. W 2010 r. na terenie Unii Europejskiej została ogłoszona nowa dyrektywa Unii (EU Directive 2010/63) dotycząca zwierząt laboratoryjnych. Ten akt prawny miał na celu poprawę dobrostanu zwierząt oraz uregulowa-

nie standardów dotyczących hodowli i pracy ze zwierzętami laboratoryjnymi. Za sprawą wprowadzonych w Dyrektywie Unii Europejskiej zmian, do obecnie obowiązującego prawa polskiego zostały wprowadzone poprawki. W 2015 r. weszła w życie nowa „Ustawa o ochronie zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych lub edukacyjnych" (Dz.U. 2015 poz. 266) oraz przyległe do niej rozporządzenia dotyczące m.in. szczegółowych warunków utrzymania zwierząt laboratoryjnych, sprawowanej opieki, kwalifikacji osób pracujących ze zwierzętami, sposobu wykonywania eksperymentów oraz prowadzonej dokumentacji. Ustawa o ochronie zwierząt laboratoryjnych nakłada obowiązek stosowania EE zarówno w hodowlach zwierząt laboratoryjnych, jak i w trakcie eksperymentów, przy czym rodzaj stosowanego urozmaicenia pozostaje w gestii hodowcy i użytkownika i powinien być dostosowany do konkretnych wymogów prowadzonych badań. Jedynym dozwolonym odstępstwem od stosowania EE jest szczególny charakter prowadzonych badań, na które została uzyskana odpowiednia zgoda Lokalnej Komisji Etycznej, tj. instytucji, która wydaje zezwolenia na prowadzenie wszelkich badań z udziałem zwierząt.

ZACHOWANIA STEREOTYPOWE

Przebywanie zwierząt w ograniczonych warunkach może, na kilka sposobów, przyczyniać się do pojawienia się reakcji stresowej. Ograniczenie możliwości prezentowania naturalnego dla danego gatunku zachowania, czy też brak kontrolowania przez zwierzę środowiska, w jakim się znajduje, wraz z brakiem możliwości wyboru osobników towarzyszących lub ich braku w czasie tworzenia relacji socjalnych, może być znacznym czynnikiem stresowym (OLSSON i DAHLBORN 2002). Odpowiedzią zwierząt na stres jest m.in. okazywanie szerokiego wachlarza zachowań stereotypowych. Zachowaniem stereotypowym można nazwać nienaturalne zachowanie zwierzęcia, charakteryzujące się wysoką powtarzalnością i niezmiennością z wyraźnym brakiem celu danego zachowania (MASON 1991). Uznaje się, że stereotypowe zachowania mogły powstawać w związku z frustracją zwierząt, wynikającą z braku możliwości wykazywania typowych dla gatunku zachowań w zubożałym środowisku (MASON 1991, HOWERTON i współaut. 2008). Zachowania, takie jak uporczywe gryzienie prętów klatki czy skakanie, stanowiły natomiast próby ucieczki z klatki w następstwie długotrwale utrzymującej się reakcji stresowej (WÜRBEL współaut. 1996, WÜRBEL 2006). Występowanie stereotypowych zachowań może służyć jako wskaźnik zaburzonego dobrostanu zwierząt (MASON 1991).

Do najczęściej spotykanych zachowań stereotypowych myszy należą:

- gryzienie prętów klatki (ang. bar mouthing)

Jest to uporczywe gryzienie szczebelków pokrywy klatki i/lub karmnika, trwające dłużej niż 10 s. W trakcie gryzienia prętów klatki zwierzę zwisa z pokrywy/karmnika (tj. zawieszone jest wszystkimi lub tylko przednimi łapkami na szczebelkach) lub stoi na tylnych łapkach na podłodze klatki. Zachowanie to może występować w jednym miejscu klatki lub zwierzę może przesuwać się wzdłuż pokrywy klatki/karmnika podczas gryzienia (GROSS i współaut. 2012).

- przemierzanie stałej trasy (ang. route tracing, pattern running, circling)

Jest to przemieszczanie się zwierzęcia, tj. przechodzenie lub bieganie wzdłuż stałej, niezmiennej trasy w kilkukrotnych powtórzeniach, co najmniej 3 razy z rzędu. Pokonywanie trasy wg określonego wzorca może również przybierać formę wspinaczki powtarzanej wedle określonego schematu (ang. patterned climbing) (GROSS i współaut. 2012).

- powtarzające się wykonywanie podskoków (ang. repetitive vertical jumping)

Jest to pionowe skakanie w jednym miejscu klatki, najczęściej w rogu lub przy ścianie klatki (WÜRBEL współaut. 1996).

- salta w tył (ang. back flipping)

Jest to wykonywanie przez zwierzę salta w tył z jednej strony klatki na drugą, w kilkukrotnych powtórzeniach, co najmniej 3 razy z rzędu. Podczas skoku zwierzę może dotykać ściany klatki lub pokrywy klatki/karmnika (GROSS i współaut. 2012).

- wygryzanie sierści i/lub wibrysów (ang. barbering)

Jest to usuwanie sierści własnej (ang. self-barbering) lub innym zwierzętom zamieszkałym w tej samej klatce (ang. hetero-barbering). Zwierzęta mogą wyrywać lub przycinać futro i/lub wibrysy innym zwierzętom (HART i współaut. 2009).

Większość badań wskazuje, że stosowanie EE pozytywnie oddziałuje na radzenie sobie zwierząt ze stresem, minimalizując zachowania stereotypowe. Jako pierwsi wykazali to COOPER i współaut. (1996) prowadząc badania na nornicy rudej *(Myodes glareolus).* Zauważyli, iż stereotypie mogą zostać zniesione przez przebywanie w bardziej złożonym środowisku, przy czym im starsze zwierzę tym trudniej wyeliminować mu dane zachowanie. Podobne efekty wykazano u myszy. Przykładowo, w badaniach przeprowadzonych na szczepie C57BL/6 zaobserwowano zmniejszenie występowania zachowań stereo-

typowych u zwierząt przeniesionych z klatek wyposażonych jedynie w czerwony domek do klatek bardziej urozmaiconych, przy czym efekt ten był silniejszy u zwierząt młodszych niż u osobników w średnim wieku (TILLY i współaut. 2010). Badania Gross i współpracowników wykazały, że dodanie materiału gniazdowego (w postaci bawełnianych kulek) do klatki jest czynnikiem wystarczającym, aby osłabić rozwój zachowań stereotypowych (GROSS i współaut. 2011, 2012). Natomiast zastosowanie materiału gniazdowego z innego tworzywa (tj. teabag material) w hodowli myszy CD-1 (ICR) nie osłabiało rozwoju zachowań stereotypowych (LATHAM i MASON 2010). Zaobserwowano również zmniejszenie zachowań stereotypowych u samców myszy CD-1 (ICR) w przypadku klatek z kołowrotkiem i z możliwością biegania (HOWERTON i współaut. 2008). Mniejsza liczba stereotypii może być związana z zaspokojeniem naturalnych potrzeb zwierząt, w tym przypadku z potrzebą „eksploracji" czy „poszukiwania". Wykazano również, iż zwierzęta (myszy i szczury) aktywnie dążą, tj. wykazują chęć uzyskania dostępu do urozmaiconego środowiska. W przeprowadzonych badaniach zwierzęta, chcąc dostać się do większej, bardziej urozmaiconej klatki z klatki mniej urozmaiconej (zawierającej jedzenie, wodę i schronienie), musiały przejść przez tunel z zapadką. Powrót z klatki bardziej urozmaiconej odbywał się podobnie przez drugi tunel z zapadką. W początkowych etapach badań, w celu zaznajomienia się z nowym otoczeniem i zaspokojeniem ciekawości, zwierzęta miały swobodny dostęp do obu klatek. W następnych etapach utrudniano dostęp do urozmaiceń poprzez dodatkowe obciążenie zapadki, wyjście pozostawiono bez zmian. Zwierzęta musiały wykonać pracę, tj. z większą siłą naciskać na zapadkę, aby dostać się do obszaru z urozmaiceniem. Zaobserwowano, iż zwierzęta pomimo napotkanej trudności chętnie przechodziły do bardziej urozmaiconych klatek (HOWERTON i współaut. 2008, TILLY i współaut. 2010). Sugeruje się również, iż u zwierząt utrzymywanych przez długi czas w zubożałym środowisku, wystąpić może „enrichment-resistant stereotypic behaviour" - zachowanie stereotypowe oporne na wzbogacenie środowiska, tj. zwiększona neofobia (strach i niechęć przed nowym i nieznanym) lub anhedonia (zmniejszona zdolność odczuwania przyjemności). Na przykład u nornicy rudej długotrwale hodowanej w ubogim środowisku zauważono zmniejszoną preferencję w stosunku do urozmaicenia środowiska przez siano, występujące w jej naturalnym otoczeniu (COOPER i NICOL 1991). Podobnie w przypadku myszy, u których zauważyć można silniejsze zachowanie stereotypowe oporne na wzbogacenie środowiska; zwierzęta w mniejszym stopniu reagują na EE oraz są mniej zmotywowane do uzyskania dostępu do urozmaiceń (TILLY i współaut. 2010). Oprócz opisywanych wcześniej stereotypowych zachowań, surowe warunki hodowli wpływają również na powstawanie stanu „świadomego bezruchu" tzn. długotrwałej apatyczności zwierzęcia przy zachowaniu przez nie pełnej świadomości. Stan taki można porównać do stanów depresyjnych u ludzi (FUREIX i współaut. 2016). W badaniach na myszach szczepu C57BL/6 oraz DBA/2 porównano grupy zwierząt hodowanych w mniej urozmaiconym środowisku (klatka wyposażona tylko w plastikowy domek lub papierowy kubek) do hodowanych w bardziej urozmaiconym środowisku (większe klatki wyposażone między innymi w plastikowy domek igloo z obrotowym talerzem do biegania, materiał do budowy gniazd, plastikowe tunele, kartonowe kubki itp.). Zauważono, iż u zwierząt utrzymywanych w zubożałym środowisku, w szczególności wykazujących relatywnie mało zachowań stereotypowych, częściej występuje zachowanie „świadomego bezruchu", przy czym u myszy C57BL/6 występuje ono częściej w porównaniu do myszy DBA/2, które są bardziej hiperaktywne i wykazują więcej stereotypii (FUREIX i współaut. 2016, CABIB 2006). Występowanie u zwierząt stereotypowych zachowań i „świadomego bezruchu" wskazuje na różną ich odpowiedź na surowe warunki hodowli. Zwierzęta mogą reagować hiperaktywnością wykazując stereotypowe zachowania lub hipoaktywnością wprowadzając się w stan bezruchu (CABIB 2006, FUREIX i współaut. 2016). Co ciekawe, zachowania stereotypowe mogą występować zarówno w ubogich warunkach hodowlanych, jak i w bardziej urozmaiconym środowisku. U myszy przebywających w ubogich warunkach wyróżnić można wiele różnych zachowań stereotypowych, podczas gdy u zwierząt przebywających w urozmaiconym środowisku głównie obserwowanym zachowaniem stereotypowym jest gryzienie prętów klatki (GROSS i współaut. 2012). Przytoczone powyżej badania wskazują na znaczny wpływ środowiska na zachowanie zwierząt oraz pokazują, jak trudnym zadaniem może być dobór odpowiedniego EE w eksperymencie.

UROZMAICENIE ŚRODOWISKA A AGRESJA U ZWIERZĄT

Stosowanie różnego typu EE, takich jak np. tekturowe tuby, drewniane lub plastikowe domki czy też platformy, w znacznym stopniu urozmaica środowisko, w jakim na co dzień żyją zwierzęta laboratoryjne. Nieste-

ty, stosowanie EE może mieć również wpływ na wzrost zachowań agresywnych, co z kolei jest zjawiskiem niepożądanym i niekorzystnym, zarówno w hodowli, jak i w trakcie eksperymentów. Różnice w reakcji na EE mogą pojawić się w obrębie danego gatunku, a nawet szczepu. W szczególności samce mogą traktować wzbogacenia jako dodatkowe zasoby, których należy bronić (GASKILL 2014). W badaniach przeprowadzonych przez HOWERTON i współaut. (2008), po wprowadzeniu do klatek samców myszy CD-1 (ICR) wzbogacenia w formie plastikowego domku igloo, zaobserwowano wzrost zachowań agresywnych oraz obniżenie spójności utworzonej hierarchii dominacji. Wzrost walk pomiędzy zwierzętami zaobserwowano również po dodaniu materiału gniazdowego w formie wełny drzewnej (ang. wood wool) u samców myszy NIH/S. Takiego efektu natomiast nie zaobserwowano u samców myszy C57BL/6 (BAYNE 2018). Wzrost zachowań agresywnych u zwierząt zaobserwować można również po czyszczeniu i/lub zmianie klatki (w szczególności 15 min po czyszczeniu). Jednak dane dotyczące tego zagadnienia są niespójne. Z jednej strony sugeruje się, że ze względu na silne znakowanie moczem terenu przez zwierzęta istotne jest, aby nie pozostawiać raz użytego EE po wymianie klatki. Potwierdzają to badania, w których zastosowanie tego samego typu EE, ale czystego, zmniejszało agresję zwierząt (AMBROSE i MORTON 2000). Z drugiej strony, nasze własne, niepublikowane obserwacje wskazują, że wśród niektórych szczepów myszy, takich jak np. TLR2$^{-/-}$B6, RAG1$^{-/-}$B6, pozostawienie niewielkiej ilości „zabrudzonego" materiału gniazdowego, a tym samym śladów zapachowych w nowej klatce, zmniejszało zachowania agresywne. Podobne obserwacje zanotowano u myszy BALB/c i CD-1, u których stwierdzono zmniejszony poziom stresu po czyszczeniu klatki, jeśli do nowej klatki przeniesiono wcześniej gniazdo zbudowane z materiału do gnieżdżenia (BAYNE 2018). Dobroczynny wpływ EE na zmniejszenie poziomu agresji u zwierząt zaobserwowano po zastosowaniu urozmaicenia w postaci przegródki dzielącej wnętrze klatki na 4 części. Podział klatki umożliwiał zwierzętom wybór spędzania czasu oddzielnie, tj. w części klatki z przegródkami (w części z pożywieniem), lub wspólnie w części klatki bez przegródki (w części z wodą). W hodowli samców myszy BALB/c (3 samce na klatkę z przegródkami) zaobserwowano obniżenie liczby oraz intensywności zachowań agresywnych wśród hodowanych zwierząt (TALLENT i współaut. 2018). Dodanie odpowiedniej ilości materiału do gniazdowania również może zmniejszać poziom agresji u samców myszy BALB/c w porównaniu z dodaniem schronienia w formie platformy. Może być to związane z zaspokojeniem potrzeby naturalnego zachowania zwierząt, jakim jest budowa gniazda. Materiał do budowy umożliwia zwierzęciu przygotowanie sobie gniazda zgodnie z własnymi preferencjami. Dodatkowo, sam proces może przyczyniać się do lepszego radzenia sobie ze stresem. Warto jednak zauważyć, że badacze wskazują na osłabienie tego efektu z czasem – zwierzęta przyzwyczajają się do otoczenia (VAN LOO 2003). Stosowanie urozmaicenia w postaci materiału do budowy gniazd i plastikowego domku w hodowli myszy szczepu C57BL/6 zmniejsza śmiertelność młodych, zwiększa średnią liczbę młodych w miocie, zwiększa masę urodzeniową młodych oraz przyśpiesza ich rozwój, w porównaniu do hodowli bez urozmaiceń (tylko ściółka) (LEIDINGER i współaut. 2019). Przytoczone wyniki badań wskazują na to, jak bardzo istotna w hodowli zwierząt laboratoryjnych jest codzienna ich obserwacja, zarówno przez opiekunów zwierząt, jak i eksperymentatorów, która może umożliwić wypracowanie wewnętrznych procedur (dotyczących m.in. zmiany klatek, rodzaju stosowanego EE) i zapobiec agresywnym zachowaniom zwierząt w hodowli.

Występowanie agresji w szczególności wpływa na:

- obniżenie poziomu dobrostanu zwierząt (wskutek agresji zwierzęta często są rozdzielane i hodowane pojedynczo, co jest sprzeczne ze strukturą socjalną zwierząt laboratoryjnych);
- większe koszty utrzymania zwierząt (rozdzielanie zwierząt generuje większą liczbę potrzebnych klatek, co równa się większym kosztom utrzymania zwierząt);
- zaburzone wyniki badań (różnice w odpowiedzi ze strony układu współczulnego i zwiększone wydzielanie glukokortykoidów);
- zwiększoną śmiertelność młodych (matki w sytuacjach stresowych mogą wykazywać agresję w stosunku do nowonarodzonych młodych);
- zwiększone zapotrzebowanie na zwierzęta (zwiększona śmiertelność związana z występowaniem agresji).

ZWIERZĘCE MODELE CHORÓB NEURODEGENERACYJNYCH A UROZMAICENIE ŚRODOWISKA

EE może indukować różnorodne zmiany w strukturze mózgu, jak i oddziaływać na jego funkcje. Ma ono istotny wpływ na plastyczność mózgu, m.in. na powstawanie nowych neuronów w hipokampie i przekształcanie ich w funkcjonalne ścieżki neuronalne oraz przyczynia się do ich wzmacniania (CAO

i współaut. 2010). Zmiany wywołane przez stosowanie EE wpływają na zwiększenie stymulacji czuciowej, poznawczej i motorycznej w różnych częściach mózgu, co indukuje poprawę funkcji kognitywnych zwierząt. Pozytywny wpływ urozmaicenia środowiska zaobserwować można w trakcie rozwoju i/lub przebiegu chorób neurodegeneracyjnych, takich jak m.in. choroba Huntingtona, Alzheimera czy Parkinsona, modelowanych u zwierząt. Wymienione choroby neurodegeneracyjne u ludzi charakteryzują się utratą neuronów w określonych regionach mózgu, prowadząc do progresywnej utraty pamięci, funkcji motorycznych, ogólnego rozumowania i demencji. W wielu przypadkach wykazano, iż EE w modelach zwierzęcych działa neuroprotekcyjnie, opóźnia postępy choroby, zmniejsza zmiany chorobowe, łagodzi wiele symptomów choroby i deficytów kognitywnych (CLEMENSON i współaut. 2018). Wzbogacenie środowiska życia człowieka dzięki regularnej aktywności fizycznej, licznym interakcjom socjalnym, wysiłkowi intelektualnemu, ćwiczeniom sensomotorycznym, jest aktualnie również stosowane jako forma terapii i wzmocnienia układu nerwowego w wymienionych chorobach.

CHOROBA HUNTINGTONA

Choroba Huntingtona jest dziedziczona w sposób autosomalny dominujący. Wywoływana jest przez mutację w genie *IT15*, kodującym białko huntingtynę (Htt), która prowadzi do zwiększenia liczby powtórzeń nukleotydów CAG. Powstałe białko (Htt) jest nieprawidłowe i gromadzi się w neuronie, co prowadzi do jego uszkodzenia. Choroba ta jest przyczyną śmierci komórek nerwowych w mózgu, czego skutkiem są deficyty poznawcze, zmiany nastroju, demencja i deficyty motoryczne (ruchy pląsawicze tj. mimowolne ruchy kończyn górnych, dolnych, tułowia i twarzy). W badaniach z udziałem mysich modeli choroby Huntingtona wykazano pozytywny wpływ stosowania urozmaicenia środowiska. U zwierząt genetycznie zmodyfikowanych (R6/1 HD oraz R6/2 HD), które były utrzymywane w urozmaiconym środowisku, zaobserwowano złagodzenie i opóźnienie rozwoju początkowych symptomów choroby, zarówno motorycznych, jak i poznawczych (VAN DELLEN i współaut. 2000, FISCHER 2016, CLEMENSON i współaut. 2018).

CHOROBA ALZHEIMERA

Choroba Alzheimera (AD) jest jedną z najczęściej występujących chorób neurodegeneracyjnych związanych z wiekiem. Powstaje w wyniku odkładania się w mózgu zewnątrzkomórkowo blaszek starczych oraz wewnątrzkomórkowo splotów neurofibrylarnych. W trakcie nieprawidłowych przemian białka amyloidowego powstaje nierozpuszczalna forma β-amyloidu, która w postaci agregatów, wraz z dystroficznymi neurytami i komórkami astrogleju oraz mikrogleju, tworzy blaszki starcze. Konsekwencją nagromadzenia się β-amyloidu jest nadmierna fosforylacja białka *tau,* które akumulując się w formie agregatów tworzą zwyrodnienia/sploty neurofibrylarne. Wymienione zmiany prowadzą do obumierania neuronów i zaniku połączeń neuronalnych w mózgu, prowadząc do powolnej, postępującej utraty pamięci i funkcji poznawczych, a w późniejszych etapach choroby, funkcji ruchowych (BARTOSZEWSKA 2008, GAWEŁ i POTULSKA-CHROMIK 2015). Wiele badań wskazuje na korzystny efekt stosowania EE w zwierzęcych modelach choroby Alzheimera, poprzez zwiększoną neurogenezę i plastyczność neuronów, co wpływa na poprawę pamięci. Najczęściej stosowanym modelem zwierzęcym AD jest model mysi, a dokładniej myszy transgeniczne z nadekspresją genu *APP* (białka prekursorowego amyloidu), myszy z mutacją genu *PS* (presenilin), tj. *PS1* i *PS2*, oraz myszy z mutacją obu genów *APP* i *PS* (PUZZO i współaut. 2015). Stosowanie EE przez okres 2-4 miesięcy u dorosłych myszy (APP/PS1, APPsw, APP23) wpływało na poprawę pamięci lub funkcji kognitywnych. Jednocześnie nie zaobserwowano zmniejszenia liczby płytek amyloidowych; odnotowano brak wpływu lub też wzrost liczby płytek amyloidowych w mózgu. Co ciekawe, u młodych (1 lub 2 miesięcznych) myszy (APP/PS1, AD11) wprowadzenie urozmaicenia wpływało, oprócz poprawy pamięci, również na zmniejszenie liczby płytek amyloidowych. Na podstawie przytoczonych badań można wnioskować, iż stosowanie EE na wczesnym etapie życia zwierząt, przed wystąpieniem odkładania się amyloidu, może skutecznie przeciwdziałać jego odkładaniu w mózgu. W momencie rozwinięcia zmian w mózgu efekt taki nie jest obserwowany (FISCHER 2016).

CHOROBA PARKINSONA

Choroba Parkinsona (PD) zaliczana jest, jako druga w kolejności, do najczęściej występujących chorób neurodegeneracyjnych postępujących z wiekiem. Etiologia PD nie jest w pełni poznana. W większości przypadków PD jest chorobą idiopatyczną i w jej powstawaniu wskazuje się udział zarówno czynników środowiskowych, takich jak np. toksyny środowiskowe, pestycydy, jak również czynniki zapalne, działanie wolnych rodników i stresu oksydacyjnego. PD występuje również w postaci dziedzicznej (5-15% przypadków), w powstawaniu której biorą udział mutacje w poszczególnych

genach m.in. *SNCA*, *PRKN*, *LRRK2*, *GBA*, *PINK1*, *PARK7* (NITHIANANTHARAJAH i HANNAN 2006, WARDAS i KOSMOWSKA 2020). Najnowsze badania wskazują również, iż w powstawaniu tego schorzenia może mieć udział mikrobiom jelitowy, a pierwszy etap choroby rozpoczyna się w jelitach i poprzez nerw błędny rozprzestrzenia się w mózgu (BRAAK i współaut. 2004, KIM i współaut. 2019, ELFIL i współaut. 2020). Objawy PD powstają na skutek postępującej degeneracji neuronów dopaminergicznych istoty czarnej wraz z pojawianiem się ciał Lewy'ego, tj. agregatów nieprawidłowo sfałdowanego białka fibrylarnego, głównie α-synukleiny, oraz licznych innych białek. Równolegle ze spadkiem liczby neuronów dopaminergicznych dochodzi do zmniejszenia stężenia dopaminy w prążkowiu i istocie czarnej, tj. szlaku czarno-prążkowiowym. Efektem postępującej choroby jest pojawienie się charakterystycznych objawów motorycznych takich jak: spowolnienie ruchowe, sztywność mięśniowa, drżenia spoczynkowe, zaburzenia postawy. Dodatkowo, w PD pojawić się mogą objawy pozaruchowe, m.in. zaburzenia węchu, stany depresyjne i lękowe, zaburzenia snu, zaparcia (GAWEŁ i POTULSKA-CHROMIK 2015). Wpływ EE na PD wykazano w licznych badaniach z użyciem zwierzęcych modeli PD, u których symptomy choroby indukowane były toksynami: MPTP (1-metylo-4-fenylo-1,2,3,6-tetrahydropirydyna) lub 6-OHDA (6-hydroksydopamina). Zastosowanie EE w przedstawionych modelach zwierzęcych, zarówno, gdy stosowane jest przed wprowadzeniem toksyny do mózgu zwierzęcia, jak i po jej podaniu, może działać ochronnie i przeciwdziałać toksynie, która prowadzi do śmierci neuronów dopaminergicznych (FISCHER 2016). Na przykład po wprowadzeniu w pierwszym tygodniu po podaniach MPTP urozmaicenia środowiska na okres 3 tygodni u samców myszy C57BL/6J, zaobserwowano w wieku 10 tygodni i 12 miesięcy znaczną poprawę funkcji motorycznych u zwierząt z grup z EE, w porównaniu do zwierząt kontrolnych (GOLDBERG i współaut. 2011). Za ochronny efekt EE może odpowiadać obniżenie gęstości transportera dla dopaminy (DAT), przez który następuje wychwyt MPTP i 6-OHDA (WASSOUF i SCHULZE-HENTRICH 2019), dzięki czemu mniej toksyny wnika do neuronów dopaminergicznych. Badania wskazują, że EE może wpływać na rozwój PD poprzez zwiększenie poziomu ekspresji m.in. neurotroficznego czynnika pochodzenia mózgowego (ang. brain neurotrophic factor, BDNF), czynnika wzrostu nerwów (ang. nerve growth factor, NGF) i czynnika neurotroficznego pochodzącego z komórek glejowych (ang. glial cell derived neurotrophic factor, GDNF) (NITHIANANTHARAJAH i HANNAN 2006), które wspierają przeżywalność neuronów.

AUTYZM

Spektrum autyzmu (ASD) jest zaburzeniem neurorozwojowym o złożonym mechanizmie. W powstawaniu choroby, na różnym etapie rozwoju, mają znaczenie zarówno czynniki genetyczne, jak i epigenetyczne. ASD jest schorzeniem obejmującym spektrum zaburzeń behawioralnych, w tym zachowania stereotypowe, zaburzenia socjalne, kognitywne, motoryczne, sensoryczne, strach przed nowym i zaburzenia w komunikowaniu się (CRAWLEY 2007, BALL i współaut. 2019). Dodatkowo, w niektórych przypadkach występują również stany lękowe, samookaleczanie i zaburzenia snu (CRAWLEY 2007). Modele zwierzęce ASD opierają się na genetycznych i chemicznych modyfikacjach, prowadzących do wywołania u zwierząt podobnych symptomów choroby. Wykazano pozytywny wpływ EE, zarówno w zwierzęcym modelu ASD, jak i u dzieci z ASD. Użycie EE w modelach mysich chorób, w których występują objawy podobne do zaburzeń autystycznych (np. zespół Retta, zespół łamliwego chromosomu X i zespół Potocki-Lupskiego), powodowało złagodzenie objawów, w tym polepszenie koordynacji ruchowej, poprawę zdolności uczenia się i pamięci, zmniejszenie zachowań repetytywnych (stereotypie), zwiększenie zachowań socjalnych i eksploracyjnych. Ponadto, wzbogacenie środowiska normalizowało u tych myszy zarówno gęstość synaptyczną, jak i długotrwałe wzmocnienie synaptyczne, poprawiając funkcjonowanie neuronów, oraz zwiększało poziom czynników neurotroficznych, w tym BDNF i NGF (WOO i współaut. 2015). W badaniach z wykorzystaniem indukowanego modelu zwierzęcego ASD, wywoływanego poprzez podanie kwasu walproinowego (VPA) w trakcie rozwoju embrionalnego szczurów wykazano, iż stosowanie EE w hodowli matek wpływa na poprawę zachowań socjalnych u potomstwa, redukuje niepokój i zmniejsza ilość zachowań stereotypowych. Zaobserwowano również poprawę deficytów kognitywnych i regenerację wypustek neuronalnych hipokampa, zwiększoną aktywność neuronalną i liczbę rozgałęzień dendrytycznych. Podobnie u myszy szczepu wsobnego BTBR T + tf/J, u których naturalnie manifestują się objawy ASD zaobserwowano, iż zwierzęta hodowane w klatkach z EE spędzają mniej czasu zaangażowane w zachowania powtarzalne (BALL i współaut. 2019).

PODSUMOWANIE

Zarówno człowiek, jak i zwierzęta żyjące na wolności, w porównaniu do zwierząt la-

boratoryjnych, przebywają w bardziej urozmaiconym środowisku. W celu stworzenia jak najbardziej adekwatnego modelu ludzkich chorób oraz przybliżenia biologii dziko żyjących zwierząt, należałoby stworzyć warunki bytowo-środowiskowe zbliżone do naturalnych. Przez lata prowadzonych badań wykazano, iż stosowanie EE ma dobroczynny wpływ na życie zwierząt i powinno być rutynowo stosowane zarówno w hodowli zwierząt laboratoryjnych, jak i w trakcie eksperymentów. Odzwierciedla się to w ewolucji przepisów dotyczących hodowli zwierząt laboratoryjnych. Niestety, w artykułach naukowych (niezwiązanych z urozmaiceniem środowiska) rzadko znaleźć można informacje na temat rodzaju stosowanego EE. Wybór używanych urozmaiceń pozostaje w gestii hodowcy/eksperymentatora i w zależności od prowadzonych badań pod określeniem „wzbogacone środowisko" kryć się mogą różnego rodzaju EE. Ważnym aspektem są również różnice w odpowiedzi zwierząt na stosowane EE w zależności od ich wieku oraz różnic w pochodzeniu (szczep wsobny, stado niekrewniacze, modyfikacje genetyczne). Przytoczone w przedstawionej pracy informacje wskazują, jak ważne dla zwierząt laboratoryjnych oraz uzyskiwanych wyników badań jest urozmaicenie środowiska. Zwracając uwagę na dobroczynny efekt EE, bardzo ważnym zagadnieniem staje się dobór odpowiedniego wzbogacenia, zarówno dla zachowania wysokiego dobrostanu zwierząt, jak i jakości prowadzonych badań. Istotna jest również codzienna obserwacja zwierząt, zarówno przez opiekunów zwierząt, jak i eksperymentatorów. Dlatego zasadnym wydaje się być rekomendowanie konieczności podawania w pracach naukowych pełnej informacji na temat stosowanych urozmaiceń w klatkach zwierząt podczas przeprowadzanych eksperymentów.

Streszczenie

Badania behawioralne są nieodzownym aspektem badań naukowych na całym świecie. Dotychczas nie udało się opracować modelu badawczego, który umożliwiłby całkowite zastąpienie doświadczalnych modeli zwierzęcych. Badania z udziałem zwierząt dostarczają kluczowych wyników i obecnie nadal pozostają koniecznością dla rozwoju nauki i dobrostanu ludzi i zwierząt. Urozmaicenie/wzbogacenie środowiska (ang. environmental enrichment, EE) to modyfikacja warunków, w jakich żyją zwierzęta, zaprojektowana tak, by promować stymulację fizyczną, kognitywną, sensoryczną i socjalną. Zarówno w hodowli, jak i w trakcie eksperymentów EE wprowadza się, aby zapewnić zwierzętom wysoki dobrostan. Korzystny wpływ stosowania EE wykazano m.in. w ograniczeniu występowania zachowań stereotypowych czy zmniejszeniu agresji wśród zwierząt. Wykazano także, że EE wpływa na przebieg modelowanych chorób neurodegeneracyjnych, wykazując działanie neuroprotekcyjne, opóźnienie postępów choroby, czy też złagodzenie wielu symptomów w modelach zwierzęcych. EE może również wpływać na wyniki niektórych badań i należy brać to pod uwagę przy prawidłowym planowaniu eksperymentów. Niniejsza praca ma na celu opis wpływu EE na funkcjonowanie zwierząt laboratoryjnych w kontekście badań nad chorobami neurologicznymi.

LITERATURA

AMBROSE N., MORTON D. B., 2000. *The Use of Cage Enrichment to Reduce Male Mouse Aggression.* J. Appl. Anim. Welfare Sci. 3, 117-125.

BALL N. J., MERCADO E. 3RD., ORDUÑA I., 2019. *Enriched Environments as a Potential Treatment for Developmental Disorders: A Critical Assessment.* Front. Psychol. 10, 1-12.

BARTOSZEWSKA M., 2008. *Molekularne mechanizmy choroby Alzheimera.* Post. Biol. Kom. 35, 333-350.

BAYNE K., 2018. *Environmental enrichment and mouse models: Current perspectives.* Anim. Models Exp. Med. 1, 82-90.

BENNETT E. L., ROSENZWEIG M. R., DIAMOND M. C., 1969. *Rat brain: Effects of environmental enrichment on wet and dry weights.* Science 163, 825-826.

BRAAK H., GHEBREMEDHIN E., RÜB U., BRATZKE H., DEL TREDICI K., 2004. *Stages in the development of Parkinson's disease-related pathology.* Cell Tis. Res. 318, 121-134.

CABIB S., 2006. *The neurobiology of stereotypy II: the role of stress.* [W:] *Stereotypic animal behaviour: fundamentals and applications to welfare Second Edition.* MASON G., RUSHEN J. (red.). CABI, Oxfordshire, 227-255.

CAO L., LIU X., LIN E. J., WANG C., CHOI E. Y., RIBAN V., LIN B., DURING M. J., 2010. *Environmental and genetic activation of a brain--adipocyte BDNF/leptin axis causes cancer remission and inhibition.* Cell 142, 52-64.

CLEMENSON G. D., GAGE F. H., STARK C. E. L., 2018. *Environmental enrichment and neuronal plasticity.* [W:] *The Oxford Handbook of Developmental Neural Plasticity.* CHAO M. V. (red.). Oxford University Press, New York, 1-42.

CRAWLEY J. N., 2007. *Mouse behavioral assays relevant to the symptoms of autism.* Brain Pathol. 17, 448-459.

COOPER J. J., NICOL C. J., 1991. *Stereotypic behaviour affects environmental preference in bank voles, Clethrionomys glareolus.* Anim. Behav. 41, 971-977.

COOPER J. J., ÖDBERG F., NICOL C. J., 1996. *Limitations on the effectiveness ofenvironmental improvement in reducing stereotypic behaviour in bank voles(Clethrionomys glareolus).* Appl. Anim. Behav. Sci. 48, 237-248.

DIAMOND M. C., LAW F., RHODES H., LINDNER B., ROSENZWEIG M. R., KRECH D., BENNETT E. L., 1966. *Increases in cortical depth and glia numbers in rats subjected to enriched environment.* J. Comp. Neurol. 128, 117-126.

ELFIL M., KAMEL S., KANDIL M., KOO B. B., SCHAEFER S. M., 2020. *Implications of the gut microbiome in Parkinson's Disease.* Mov. Disord. 35, 921-933.

FISCHER A., 2016. *Environmental enrichment as a method to improve cognitive function. What can we learn from animal models?* Neuroimage 131, 42-47.

FUREIX C., WALKER M., HARPER L., REYNOLDS K., SALDIVIA-WOO A., MASON G., 2016. *Stereotypic behaviour in standard non-enriched cages is an alternative to depression-like responses in C57BL/6 mice.* Behav. Brain Res. 305, 186-190.

GAWEŁ M., POTULSKA-CHROMIK A., 2015. *Choroby neurodegeneracyjne: choroba Alzheimera i Parkinsona.* Post. Nauk Med. 28, 468-476.

GASKILL B. N., 2014. *Aggression in laboratory mice: potential influences and how to manage it.* Enrichment Record 18, 22-25.

GOLDBERG N. R., HAACK A. K., MESHUL C. K., 2011. *Enriched environment promotes similar neuronal and behavioral recovery in a young and aged mouse model of Parkinson's disease.* Neuroscience 172, 443-452.

GROSS A. N., ENGEL A. K. J., WÜRBEL H., 2011. *Simply a nest? Effects of different enrichments on stereotypic and anxiety-related behaviour in mice.* Appl. Anim. Behav. Sci. 134, 239-245.

GROSS A. N., RICHTER S. H., ENGEL A. K. J., WÜRBEL H., 2012. *Cage-induced stereotypies, perseveration and the effects of environmental enrichment in laboratory mice.* Behav. Brain Res. 234, 61-68.

HART C. L., BERGNER B. D., DUFOUR A. N., SMOLINSKY R. J., EGAN J. L., 2009. *Analysis of abnormal repetitive behaviors in experimental animal models.* [W:] *Translational. Neuroscience in Animal Research: Advancement, Challenges, and Research Ethics.* WARNICK J. E., KAULEFF A. V. (red.). Nova Science Publishers, New York, 71-82.

HEBB D. O., 1947. *The effects of early experience on problem solving at maturity.* Am. Psychol. 2, 306-307.

HOWERTON C. L., GARNER J. P., MENCH J. A., 2008. *Effects of a running wheel-igloo enrichment on aggression, hierarchy linearity, and stereotypy in group-housed male CD-1 (ICR) mice.* Appl. Anim. Behav. Sci. 115, 90-103.

JENNINGS M., BATCHELOR G. R., BRAIN P. F., DICK A., ELLIOTT H., FRANCIS R., HUBRECHT R. C., HURST J. L., MORTON D. B., PETERS A. G., RAYMOND R., SALES G. D., SHERWIN C. M., WEST C., 1998. *Refining rodent husbandry: the mouse. Report of the Rodent Refinement Working Party.* Lab. Anim. 32, 233-259.

KIM S., KWON S.-H., KAM T.-I., PANICKER N., KARUPPAGOUNDER S. S., LEE S., LEE J. H., KIM W. R., KOOK M., FOSS C. A., SHEN C., LEE H., KULKARNI S., PASRICHA P. J., LEE G., POMPER M. G., DAWSON V. L., DAWSON T. M., KO H. S., 2019. *Transneuronal propagation of pathologic a-synuclein from the gut to the brain models Parkinson's disease.* Neuron 103, 627-641.

LATHAM N., MASON G. J., 2010. *Frustration and perseveration in stereotypic captive animals: is a taste of enrichment worse than none at all.* Behav. Brain Res. 211, 96-104.

LEIDINGER C. S., THÖNE-REINEKE C., BAUMGART N., BAUMGART J., 2019. *Environmental enrichment prevents pup mortality in laboratory mice.* Lab. Anim. 53, 53-62.

MASON G. J., 1991. *Stereotypies: a critical review.* Anim. Behav. 41, 1015-1037.

NITHIANANTHARAJAH J., HANNAN A. J., 2006. *Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system.* Nat. Rev. Neurosci. 7, 697-709.

OLSSON A. S., DAHLBORN K., 2002. *Improving housing conditions for laboratory mice: a review of 'environmental enrichment.* Lab. Anim. 36, 243-270.

PUZZO D., GULISANO W., PALMERI A., ARANCIO O., 2015. *Rodent models for Alzheimer's disease drug discovery.* Expert Opin. Drug Discov. 10, 703-711.

RUSSELL W. M. S., BURCH R. L., 1959. *The principles of humane experimental technique.* London, Methuen.

TALLENT B. R., LAW L. M., ROWE R. K., LIFSHITZ J., 2018. *Partial cage division significantly reduces aggressive behavior in male laboratory mice.* Lab. Anim. 52, 384-393.

TILLY S. L. C., DALLAIRE J., MASON G. J., 2010. *Middle-aged mice with enrichment-resistant stereotypic behaviour show reduced motivation for enrichment.* Anim. Behav. 80, 363-373.

WARDAS J., KOSMOWSKA B., 2020. *Zaburzenia zachowania fazy snu REM jako wczesny marker choroby Parkinsona.* Kosmos 69, 509-521.

WASSOUF Z., SCHULZE-HENTRICH J. M., 2019. *Alpha-synuclein at the nexus of genes and environment: the impact of environmental enrichment and stress on brain health and disease.* J. Neurochem. 150, 591-604.

WOO C. C., DONNELLY J. H., STEINBERG-EPSTEIN R., LEON M., 2015. *Environmental enrichment as a therapy for autism: A clinical trial replication and extension.* Behav. Neurosci. 129, 412-422.

WÜRBEL H., 2006. *The motivational basis of caged rodents' stereotypies.* [W:] MASON G. J., RUSHEN J. (red.). *Stereotypic animal behaviour – fundamentals and applications to welfare.* CABI, Oxfordshire, 86-120.

WÜRBEL H., STAUFFACHER M., VON HOLST D., 1996. *Stereotypies in laboratory mice – quantitative and qualitative description of the ontogeny of 'wire-gnawing' and, 'jumping' in Zur:ICR and Zur:ICR nu.* Ethology 102, 371-385.

VAN DELLEN A., BLAKEMORE C., DEACON R., YORK D., HANNAN A. J., 2000. *Delaying the onset of Huntington's in mice.* Nature 404, 721-722.

VAN LOO P. L., VAN ZUTPHEN L. F., BAUMANS V., 2003. *Male management: Coping with aggression problems in male laboratory mice.* Lab. Anim. 37, 300-313.

KOSMOS Vol. 70, 4, 721–730, 2021

DOMINIKA BIAŁA, PAULINA KOWALCZYK

Department of Neuropsychopharmacology, Maj Institute of Pharmacology, 12 Smętna Str., 31-343 Kraków,
E-mail: biala@if-pan.krakow.pl

MICE'S AND RATS' ENVIRONMENT ENRICHEMENT IN RESEARCH

Summary

Behavioral research is an indispensable aspect of scientific research around the world. So far, it has not been possible to develop a research model that would allow a complete replacement of experimental animal models. Animal research provides key results and continues to be a necessity today for the advancement of science and human and animal welfare. Environmental enrichment (EE) is the manipulation of the environment in which animals live, designed to promote physical, cognitive, sensory, and social stimulation. Researchers introduced environmental enrichment to ensure animals' welfare, both during the breeding and the experiments. The beneficial effect of using EE has been demonstrated, among others, by reducing the incidence of stereotypical behaviors, reducing aggression in animals. It was also shown that EE changes the course of neurodegenerative diseases, shows neuroprotective effects, delays the progress, or alleviates many symptoms of the disease. EE can also influence the results of some studies, and this should be taken into account when properly planning experiments. This article aims to describe the impact of EE on the welfare of laboratory animals in the context of research on neurological disorders.

Key words: environmental enrichment, laboratory animals, mouse, neurodegenerative diseases, rat