

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1.Tytuł projektu: **Wpływ pre- i postnatalnej aktywacji układu immunologicznego (tzw. dual hit) na funkcje i ultrastrukturę mitochondriów oraz zakończeń synaptycznych. Znaczenie w chorobach neurorozwojowych.**

2.Czas trwania projektu: 4 lata

3.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): **mitochondria, Lipopolisacharyd (LPS), zapalenie, choroby neurorozwojowe, autyzm**

4.Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) **A**

A. Badania podstawowe

B. Badania translacyjne lub stosowane

C. Badania mające na celu zachowanie gatunku

D. Badania z zakresu medycyny sądowej

E. Badania zapewniające poprawę dobrostanu zwierząt lub warunków chowu lub hodowli zwierząt gospodarskich

F. Badania w celu opracowania i produkcji produktów leczniczych, środków spożywczych, pasz lub innych substancji lub produktów, lub badań ich jakości, skuteczności lub bezpieczeństwa stosowania

G. Badania w celu ochrony środowiska naturalnego

H. Badania w celu kształcenia na poziomie szkolnictwa wyższego lub szkolenia w celu nabycia lub doskonalenia kompetencji zawodowych

5. OPIS PLANOWANEGO DOŚWIADCZENIA

Należy określić cel naukowy lub edukacyjny doświadczenia, w tym przewidywane szkody, jakie może ono spowodować u wykorzystywanych zwierząt, i korzyści, jakie przyniesie ono dla rozwoju nauki i dydaktyki. Maksymalnie 250 słów, tekst musi być zrozumiały dla niespecjalisty.

Choroby neurorozwojowe, w tym zaburzenia ze spektrum autyzmu (ASD) dotyczą ponad 1% populacji dzieci na świecie. Brak jest pojedynczej przyczyny chorób neurorozwojowych i prawdopodobnie jest ona kombinacją czynników środowiskowych i genetycznych. U pacjentów z ASD wykazano m.in. podwyższony poziom cytokin prozapalnych, czy podwyższony poziom stresu oksydacyjnego, które mogą prowadzić do zaburzeń energetycznych, a także zaburzeń funkcji mitochondriów. Brak jednak jest kompleksowych danych dotyczących zmian w funkcjonowaniu tych organelli. **Niniejszy projekt skupiony będzie wokół zagadnień dotyczących zaburzeń funkcji mitochondriów i przekazywania synaptycznego w mózgach zwierząt, które narażone były na aktywację stanu zapalnego: pierwszy raz w życiu płodowym oraz drugi raz w okresie neonatalnym (model podwójnego „uderzenia” infekcji).** Wykonana zostanie analiza behawioralna, mikroskopowa, molekularna oraz biochemiczna mózgu w celu prowadzenia badań podstawowych w rozumieniu art. 2 pkt 3 lit. a ustawy z dnia 30

kwietnia 2010r. (Dz. U. z 2014 r. poz. 1620). Badania przyczynią się do poszerzenia wiedzy nt. patomechanizmów ASD, a być może pozwolą na wyznaczenie potencjalnych strategii profilaktycznych lub terapeutycznych, co może przyczynić się do poprawy komfortu życia chorych i ich rodzin, ma też istotny wymiar ekonomiczny.

Przewidywane szkody, jakie badania mogą spowodować u zwierząt są umiarkowane. Iniekcja bakteryjnej endotoksyny ciężarnym samicom i oseskom powoduje przejściowy, stan zapalny z objawami typowymi dla infekcji, np. takimi jak zmiany temperatury ciała, apatia, brak apetytu, trwający średnio około 24h. Zwierzęta potomne narażone będą na stres o niskim natężeniu w czasie testów behawioralnych. Przewidywaną szkodą dla wszystkich zwierząt w projekcie jest śmierć, po której nastąpi pobranie tkanek do badań.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W przebiegu doświadczenia wykorzystane zostanie: 24 ciężarne samice oraz ich potomstwo w liczbie 240 (samice i samce). W sumie 264 szczury

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy sprawdzono stan istniejącej wiedzy w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych PubMed, SCOPUS i Google Scholar wykorzystując słowa kluczowe: autism, autism spectrum disorders, animal models, maternal immune activation, LPS, duble hit LPS, ultrastructural alterations, mitochondria function, synaptic alteration.

Na podstawie literatury stwierdzono, że badanie mechanizmów i potencjalnych terapii zaburzeń spektrum autyzmu u człowieka niesie ze sobą konieczność użycia gryzoni, jako organizmów modelowych. Mnogość objawów obserwowanych u osób autystycznych przemawia za tym, że prawdopodobnie nie mają one jednego wspólnego czynnika etiologicznego. Obraz kliniczny pacjentów z ASD świadczy o globalnych zaburzeniach ośrodkowego układu nerwowego: funkcji integracyjnych, koordynacyjnych i regulacyjnych. Wobec powyższego, złożoność ASD nie pozwala na wykorzystanie organizmów prostszych – rośliny, bezkręgowce ani na ograniczenie się do hodowli komórkowych.

Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że czynniki środowiskowe działające w prenatalnej fazie rozwoju oraz we wczesnym okresie postnatalnym mogą w istotny sposób przyczyniać się do powstania zaburzeń ze spektrum autyzmu. Brak jest danych dotyczących współwystępowania infekcji w czasie pre- i postnatalnego rozwoju z zaburzeniami ultrastrukturalnymi mitochondriów i synaps, a także z energetyką komórek i utratą funkcji mitochondriów.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na zdobycie nowej wiedzy dotyczącej patomechanizmu choroby, co w przyszłości może być pomocne dla poszukiwania związków farmakologicznych w leczeniu autyzmu i zaburzeń ze spektrum autyzmu. Może to przynieść wymierną

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

korzystać dla poprawy komfortu życia chorych i ich rodzin, ma też istotny wymiar ekonomiczny.

ZASADA ZASTĄPIENIA

Po przeszukaniu baz danych dotyczących metod alternatywnych ograniczających liczbę zwierząt bądź całkowicie je wykluczających, wobec braku odpowiednich modeli nie-zwierzęcych postanowiono zrealizować plan badawczy z wykorzystaniem najmniejszej z możliwych liczby zwierząt, która zapewni osiągnięcie celu badawczego i statystycznego, ze szczególną dbałością o stosowanie zasad 3R.

ZASADA OGRANICZENIA

Zaplanowana w doświadczeniu ilość zwierząt jest najmniejszą z możliwych do przeprowadzenia badań i uzyskania wiarygodnych wyników potwierdzonych metodami statystycznymi. Minimalną liczbę osobników do eksperymentów przyjęto metodę doboru próby (kalkulator doboru próby: <http://www.naukowiec.org/dobor.html>). Uwzględniono osobniki dodatkowe w razie potrzeby uzupełnienia liczebności grupy przy niespodziewanych stratach (śmierć, wystąpienie chorób lub urazów wykluczających zwierzęta z doświadczenia). Do badań wybrano zwierzęta laboratoryjne o pożądanych cechach.

ZASADA UDOSKONALENIA

Wykorzystywane zwierzęta będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku, a metody badawcze zastosowane w procedurach zostały wybrane tak, aby ograniczały do minimum albo eliminowały ból, cierpienie, dystres lub możliwość trwałego uszkodzenia organizmu tych zwierząt. Zastosowanie jednopłciowych grup badawczych pozwoli uniknąć rywalizacji samców o samice. Ponadto w trakcie trwania eksperymentu zwierzęta będą przebywały w swoich klatkach bytowych w warunkach wzbogaconego środowiska (materiał gniazdowy, tj. długie i szerokie wióry oraz płatki kosmetyczne i drewniane gryzaki), ze stałym dostępem do wody i paszy. Kontakt ze zwierzętami będą miały wyłącznie wykwalifikowane osoby wykonujące doświadczenie. W razie pogorszenia się stanu zdrowia (widoczne objawy bólu i cierpienia) zwierzęta zostaną wyłączone z procedury przez humanitarne uśmiercenie.

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.