

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Analiza wpływu hydroksychlorochiny na morfologię oraz ekspresję markerów komórkowych w nabłonku węchowym myszy *Mus musculus*.

2. Czas trwania projektu: 01-07-2020 do 30-06-2024

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): układ węchowy, COVID-19, hydroksychlorochina, infekcja wirusowa

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.

Liczne doniesienia lekarzy i wstępne dane doświadczalne in vitro sugerują iż chlorochina i jej pochodne skutecznie łagodzą objawy choroby COVID-19 wywołanej infekcją wirusa SARS-CoV-2. Wciąż jednak brak wystarczających danych epidemiologicznych oraz nie wiadomo jaki mógłby być dokładny mechanizm działania chlorochiny. Z uwagi na ogromną skalę trwającej obecnie pandemii COVID-19, sprawa ewentualnego pozytywnego wpływu chlorochiny na pacjentów z COVID-19 budzi ogromne zainteresowanie społeczne i zmobilizowała naukowców do zainicjowania intensywnych badań wielu aspektów tego problemu. Większość badań nad chlorochiną i jej pochodnymi w odniesieniu do wirusa SARS-Cov-2 koncentruje się na symptomach oddechowych, jednak wiadomo że chorobie COVID-19 towarzyszą także inne objawy, m.in. neurologiczne. Ostatnie doniesienia, między innymi również nasze badania, wskazują iż nabłonek węchowy może być potencjalnie u człowieka miejscem przenikania wirusa SARS-CoV-2 do układu nerwowego, a nawet mózgu Butowt i Bilinska, 2020a; ACS Chemical

Neurosci). Dlatego zaplanowaliśmy zbadanie wpływu hydroksychlorochiny na nabłonek węchowy u myszy laboratoryjnej. Procedurę zaplanowano minimalizując ból oraz cierpienie zwierząt, gdyż wykonany zostanie tylko pojedynczy nastrzyk około 20-30 mikrolitrów roztworu ciekłą, sterylną igłą insulinową trwający maksymalnie 1-2 sekundy. Celem doświadczenia jest zbadanie wpływu znanego leku anty-malarycznego oraz obecnie rozważanego leku przeciwko wirusowi SARS-CoV-2 na cechy morfologiczne i ekspresję markerów komórkowych w nabłonku węchowym myszy laboratoryjnej (linia C57BL/6J). Na jeden punkt pomiarowy zaplanowano wykorzystanie 5 myszy, co jest liczbą minimalną lecz umożliwiającą już uzyskanie wiarygodnych wyników przy poziomie istotności 0,05. Sumarycznie zostanie wykorzystanych 40 myszy. Liczba ta obejmuje 2 razy po 5 myszy kontrolnych (nastrzyk wyłącznie PBS) oraz 2 razy po 5 myszy eksperymentalnych (nastrzyk roztworu hydroksychlorochiny w PBS dla punktu czasowego 24 godziny oraz 72 godziny) w celu uzyskania materiału do badań mikroskopowych. Oraz takie same liczby myszy w celu pobrania materiału do badań biochemicznych. W sumie jest to 40 sztuk myszy.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mus musculus, mysz laboratoryjna – 40 sztuk (samce), dominujące tło genetyczne C57BL/6, myszy niemodyfikowane genetycznie.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

W planowanej procedurze zamierzamy uwzględnić zachowanie zasady 3R. Zaletą naszej procedury jest zastosowanie jedynie pojedynczej iniekcji za pomocą jednorazowej, sterylnej i cienkiej igły typu „insulinówka”, co znacznie zmniejsza ból i cierpienie zwierząt. Liczba wykorzystanych myszy również jest ograniczona do minimum, gdyż przewiduje się użycie jedynie 5 myszy na punkt pomiarowy. W naszym badaniu wykorzystamy zatem minimalną liczbę myszy umożliwiającą uzyskanie miarodajnych wyników. Gdyby zaszła konieczność analizy dodatkowego punktu pomiarowego lub stadium wiekowego, wystąpimy w tej sprawie z nowym wnioskiem do LKE. Badań tych nie można przeprowadzić *in vitro* z uwagi na specyfikę sieci neuronalnej oraz połączeń pomiędzy neuronami w tejże sieci. Od wielu lat wiadomo, że neurony nie odtwarzają prawidłowych połączeń synaptycznych gdy są hodowane *in vitro*, często nawet trudno odróżnić aksony od dendrytów w takich hodowlach.

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

Dlatego lokalizacja i ekspresja wielu białek *in vitro*, a co za tym idzie czasami też i funkcje, nie są identyczne z sytuacją *in vivo*. W związku z tym doświadczenia te należy przeprowadzić w modelu zwierzęcym. Mysz jest najlepszym wyborem gdyż istnieją już dostępne komercyjnie mysie modele transgeniczne w których można badać infekcję i wnikanie wirusa SARS-CoV-2 do organizmu. Dlatego zbadanie wpływu hydroksychlorochiny u myszy zdrowej na jej nabłonek węchowy może być niezwykle przydatne w przyszłych planowanych przez nas badaniach z infekcyjnym wirusem u tego samego gatunku (mysz). Ponadto, mysz laboratoryjna jest ewolucyjnie i fizjologicznie znacznie bardziej zbliżona do człowieka niż np. muszka owocowa *Drosophila*. Idealnie byłoby przeprowadzić proponowane doświadczenie u małych naczelników, ale jest to nierealistyczne z wielu istotnych powodów. Dlatego mysz jest tutaj rozsądnym kompromisem. Jednocześnie istotne jest iż niektóre pochodne chlorochiny (originalny lek antymalaryczny) są znacznie mniej toksyczne dla zwierząt takich jak mysz (McChesney EW, Am J Med. v.75 p.11-18). Dlatego zdecydowaliśmy się na użycie siarczanu hydroksychlorochiny.

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.