

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1.Tytuł projektu: **Zapobieganie zmianom neurozwyrodnieniowym oraz upośledzeniom motorycznym i poznawczym w mysich modelach choroby Alzheimera i otępienia czołowo-skroniowego – znaczenie modyfikacji strukturalnych i czynnościowych białka tau.**

2.Czas trwania projektu: **5 lat**

3.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): **choroba Alzheimera, otępienie czołowo-skroniowe, toksyczne oligomery białka tau, nowe substancje terapeutyczne, modele zwierzęce chorób neurozwyrodnieniowych**

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

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.

Celem naukowym projektu jest weryfikacja hipotezy o niekorzystnym oddziaływaniu pomiędzy toksycznymi formami **białka tau**, a **układami przekazywania sygnałów pomiędzy neuronami mózgu** w rozwoju chorób neurozwyrodnieniowych, takich jak **choroba Alzheimer’a (chA)** i **otępienie czołowo-skroniowe (FTD)**, które określa się **tauopatiami**. Badania oceniają współbieżne zmiany w metabolizmie białka tau i czynności układów neuroprzekaźnikowych (cholinergiczny i glutaminergiczny) w nowych liniach myszy zmodyfikowanych genetycznie, będących zwierzęcymi modelami ludzkich zespołów otępiennych: **linii Tg^{L1}** rozwijającej umiarkowaną tauopatię obserwowaną w chA i **linii Tg^{L66}** rozwijającej nasiloną tauopatię typu otępienia czołowo-skroniowego.

Nowością projektu jest zbadanie zmian metabolizmu tau i stowarzyszonych zmian w przekaźnictwie u zwierząt w

różnym wieku, ponieważ procesy patologiczne w wybranych liniach nasilają się z wiekiem, dzięki czemu dobrze odzwierciedlają rozwój obu chorób u ludzi. Dodatkową wartością projektu jest zbadanie wpływu leków na toksyczne działanie oligomerów tau i precyzyjne opisanie zmian indukowanych podawaniem nowo rozwijanego, skutecznego leku przeciw tauopatiom, tj. **hydrometylotioniny (HMT)** oraz obecnie stosowanych leków - **rywastygminy** i **memantyny**. Przysłuży się to poznaniu mechanizmu neuroprotekcijnego działania tych substancji i może mieć znaczenie w modyfikacji terapii chA i FTD. Ponadto, istotnym elementem planowanych badań jest wyjaśnienie interakcji pomiędzy HMT, a rywastygminą i memantyną. Od wyników tych badań uzależniona jest rejestracja HMT, jako leku dopuszczonego do stosowania w postępowaniu klinicznym.

Spodziewane szkody dla zwierząt:

Zwierzęta będą poddawane (1) testom behawioralnym, (2) dożołądkowemu podawaniu substancji, (3) operacjom mikrochirurgicznym oraz (4) uśmierceniu. Procedury mieszczą się w kategorii umiarkowanej dotkliwości, jednak mogą wiązać się ze stresem i bólem, dlatego podjęte zostaną działania w celu zminimalizowania szkód. Zastosowane **testy behawioralne** naśladują zachowania myszy w stanie dzikim i wykorzystują wrodzone zachowania nie powodując nadmiernego stresu. **Dożołądkowe podawanie leków** jest dobrze tolerowane przez myszy (wiedza nabyta we wcześniejszych badaniach) i będzie wykonywane przez osobę o bardzo wysokich umiejętnościach. **Operacje mikrochirurgiczne** (podawanie **znacznika transportu substancji w neuronach** mózgu) przeprowadzone zostaną pod kontrolą anestezjologiczną wykluczającą odczuwanie bólu i powikłania pooperacyjne. **Uśmiercenie**, konieczne w celu pozyskania tkanki do planowanych analiz zostanie dokonane ściśle według procedur dopuszczonych w DYREKTYWIE PARLAMENTU EUROPEJSKIEGO I RADY 2010/63/UE w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych. Zwierzęta będą miały również zapewnione komfortowe warunki bytowania (wzbogacone środowisko, powiększone klatki, grupy socjalne). W przypadku zaobserwowania jakichkolwiek niekorzystnych objawów zdrowotnych opinia lekarza weterynarii zdecyduje o wycofaniu zwierzęcia z eksperymentu i uśmierceniu.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mysz (*Mus musculus*), szczep NMRI:

Linia dzika – 2160 osobników

Linia transgeniczna L1 - 2160 osobników

Linia transgeniczna L66 - 2160 osobników

Łącznie -6480- myszy

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Mając na uwadze dobrostan zwierząt bezwzględnie będziemy stosowali zasadę 3 R, wprowadzoną w 1959 roku przez Williama Russela i Rexa Burcha, przede wszystkim, w celu możliwego ograniczenia liczby używanych zwierząt czy ograniczenia materiału badawczego.

REPLACEMENT – zastąpienie doświadczeń na zwierzętach metodami *in vitro* (hodowle komórkowe, tkankowe), zastąpienie zwierzętami o niższym stopniu rozwoju ewolucyjnego. Ze względu na cel badawczy nie możemy zastąpić modeli zwierzęcych metodami *in vitro* takimi jak hodowle komórkowe czy tkankowe. Uzyskana wiedza ma dotyczyć funkcjonalnych połączeń neuronów oraz zachowań naśladujących zaburzenia motoryczne i poznawcze w chorobach neurodegeneracyjnych u ludzi zatem nie można jej pozyskać w badaniach *in vitro*, a jedynie w badaniach *in vivo*.

REDUCTION - W celu uzyskanie odpowiedzi na postawiony problem badawczy liczebność każdej pojedynczej grupy doświadczalnej skalkulowano kierując się wymogami analizy statystycznej dla badań behawioralnych, w których należy uwzględnić dużą zmienność osobniczą. Tym niemniej zredukowaliśmy liczbę zwierząt do minimum wyliczonego na podstawie zleceń zawartych w publikacji *Whitley i Ball, 2002* tak, aby otrzymać dane nie budzące zastrzeżeń metodycznych w procesie recenzji publikowanych wyników.

REFINEMENT - Wszystkie procedury eksperymentalne są tak zaplanowane, aby przysparzały zwierzętom mniej cierpień. Do takich standardowych działań należy zastosowanie głębokiej narkozy z użyciem izofluranu oraz znieczulenia miejscowego przy operacji. Jednocześnie, podczas operacji temperatura zwierzęcia będzie monitorowana i utrzymywana na stałym poziomie przy pomocy koca termicznego. Po zakończeniu operacji brzegi rany zostaną pokryte 3-procentowym roztworem jodu w etanolu. Zwierzę otrzyma podskórne zastrzyki z długo działającego leku przeciwbólowego i antybiotyku. Do momentu wybudzenia, zwierzę pozostanie pod stałą kontrolą eksperymentatora, w dogrzewanej klatce. Antybiotyk podawany będzie przez kolejne 5 dni po zabiegu, lek przeciwbólowy przez 1-2 dni po zabiegu. Przy takim postępowaniu rany pooperacyjne goją się dobrze i w ciągu kilku dni. Wszystkie procedury eksperymentalne są tak zaplanowane, aby nie przysparzały zwierzętom cierpień. Duży nacisk kładziony jest także na dostosowanie warunków hodowli do naturalnych potrzeb zwierząt. Myszy utrzymywane będą w naturalnych grupach socjalnych w klatkach z użyciem elementów wzbogacających środowisko. Aby dane eksperymentalne były wiarygodne zwierzęta powinny czuć się komfortowo podczas trwania doświadczeń, dlatego myszy będą oswajane z eksperymentatorem i aparaturą behawioralną. Na żadnym etapie procedury zwierzęta nie powinny odczuwać zwiększonego stresu ponieważ w testach behawioralnych wykorzystana będzie ich naturalna ruchliwość, skłonność do eksploracji środowiska oraz elastyczność behawioralna motywująca do zachowań poznawczych i uczenia się.

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

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.