

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Badania wpływu 3,4-DAP na organizację oraz funkcjonowanie synaps nerwowo-mięśniowych w mysim modelu miastonii gravis.

2. Czas trwania projektu . 01.12.2020 – 01.12.2022 (2 lata)

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) synapsa nerwowo-mięśniowa, NMJ, miastenia, MuSK

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.

Miastenie to zespół nabytych, przewlekłych chorób, charakteryzujących się zmęczeniem i osłabieniem mięśni szkieletowych. Przyczyną miastonii jest proces autoimmunologiczny, w którym powstają przeciwciała atakujących komponenty synaps nerwowo-mięśniowych. Powstanie przeciwciała przeciwko MuSK powoduje dezintegrację synaps oraz wadliwe przekazywanie bodźców z neuronów motorycznych do mięśni szkieletowych. W rezultacie pacjenci cierpią na zaburzenia układu motorycznego, trudności w oddychaniu oraz zanik masy mięśniowej. Obecnie nie ma dobrego lekarstwa na miastenie z przeciwciałami na MuSK, co związane jest z dużą dozą cierpienia pacjentów i ich rodzin oraz wysokimi kosztami leczenia do końca życia, które obciążają społeczeństwo.

W doświadczeniach wykorzystamy myszy model miastenia - szczep A/WySnJ immunizowany poprzez

iniekcje białka MuSK w celu wytworzenia przeciwciał. Następnie będziemy testować długotrwały efekt podawania leku 3,4-DAP (3,4-Diaminopirydyna) na zdolność ruchową zwierząt i siłę ich mięśni, organizację synaps nerwowo-mięśniową na poziomie strukturalnym (mikroskopia konfokalna) oraz ultra-strukturalnym (mikroskopia elektronowa). Dodatkowo zbadamy w jakiś sposób 3,4-DAP działając na część presynaptyczną (neuron) doprowadza do poprawienia funkcjonowania części postsynaptycznej synaps (aparat na mięśniach).

Doprowadzi to do wykazania długotrwałego działania 3,4-DAP w modelu miastonii (dotąd nie opublikowane) oraz zbadania mechanizmu działania leku na synapsy nerwowo-mięśniowe. Kolektywnie, badania otworzą drogę do nowych terapii i wskazań dla zastosowania 3,4-DAP w miastonii oraz innych schorzeń z podobnymi zaburzeniami na synapsach.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniach wykorzystane będzie 198 myszy laboratoryjnych (*Mus musculus*) szczepu A/WySnJ.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Zastąpienie: Proponowany mysi model miastonii MuSK najbardziej odzwierciedla zaburzenia patologiczne występujące u ludzi. Nie jest możliwe zastąpienie myszy modelem bezkręgowców, gdyż organizacja i funkcjonowanie u nie synaps nerwowo-mięśniowych znacząco różni się od tych u ssaków. Różnice te są znaczące na poziomie morfologii synaps, wykorzystywanych neurotransmiterów (*Drosophila* np. wykorzystuje glutaminian zamiast acetylocholino), jak również mechanizmów funkcjonowania i adaptacji synaps. Dodatkowo znaczące różnice w organizacji i funkcjonowaniu układu immunologicznego uniemożliwiają użycie bezkręgowców jako modelu badawczego. Planowane badania wykluczają zastosowanie modelu *in vitro* z wykorzystaniem ustalonych linii komórek nerwowych i mięśniowych, ponieważ nie prowadzą one do rozwoju dojrzałych struktur układu nerwowego, co można

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

osiągnąć jedynie w badaniach *in vivo*. Ponadto nie są one wystawione na działanie układu immunologicznego.

Ograniczenie: Wielkość grup eksperymentalnych została ustalona w oparciu o wcześniejsze doświadczenie w pracy z myszami oraz na podstawie wytycznych statystycznych. W naszych doświadczeniach planujemy wykorzystać jak najmniejszą liczbę zwierząt, ale wystarczającą aby uzyskać istotne statystycznie wyniki.

Udoskonalenie: Procedury i czynności doświadczalne będą wykonywane w taki sposób, aby zapewnić jak największy komfort i bezpieczeństwo zwierzęcia. W klatkach domowych zwierzęta będą mogły korzystać z przedmiotów wzbogacających środowisko, materiałów do budowy gniazda i służących do zabawy. Doświadczenia będą prowadzone przez doświadczonych badaczy dbających o komfort i dobrą kondycję zwierząt.

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.