

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: **Określenie wpływu 6 preparatów probiotycznych na zdolności kognitywne, motoryczne i funkcje układu pokarmowego u myszy-modeli choroby Alzheimera, choroby Parkinsona i stanu zapalnego jelita.**

2. Czas trwania projektu: **18 miesięcy**

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): **choroba Alzheimera, choroba Parkinsona, model transgeniczny, zapalenie jelit, probiotyki**

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) **A. 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 planowanych badań jest określenie wpływu probiotyków na zdolności poznawcze i motoryczne myszy, będących transgenicznymi zwierzęcymi modelami choroby Alzheimera i Parkinsona oraz na funkcje jelita w indukowanym podaniem DSS (siarczan sodu dekstranu) stanie zapalnym.

Zgodnie z obecnym stanem wiedzy u zwierzęcych modeli choroby Alzheimera i choroby Parkinsona, obserwujemy zaburzenia funkcji poznawczych takich jak pamięć, zdolności do rozpoznawania nowych obiektów, stanu czuwania i uwagi. Przeprowadzone badania potwierdziły, iż wyniki uzyskane na myszach mogą być odnoszone do ludzi, a przebieg zaburzeń jest skorelowany z przebiegiem choroby u ludzi. Modele genetyczne były także wykorzystywane do badań flory jelitowej w wymienionych schorzeniach.

Eksperyment będzie polegał na podawaniu myszom przez 8 tygodni wybranych szczepów bakterii probiotycznych, a następnie analizie ich zachowania w testach specyficznych dla danego modelu schorzenia i tak dla:

- modelu choroby Alzheimer'a będą to: test otwartego pola, labirynt wodny Morrisa, test biernego unikania, test w labiryncie T
- modelu choroby Parkinsona będą to: test otwartego pola, test pręta obrotowego Rotarod, analiza chodu w systemie CatWalk.

Po zakończeniu testów zwierzęta zostaną poddane eutanazji celem pobrania materiału do badań. Wybrane preparaty probiotyczne zostaną też wykorzystane do określenia ich wpływu na funkcje jelita w indukowanym stanie zapalnym. Zaproponowany model stanu zapalnego jest ogólnie przyjętym modelem w tego typu badaniach.

W ramach tej procedury zwierzęta będą otrzymywały DSS w wodzie pitnej przez 8 dni, a następnie przez 8 dni, sondą dożołądkową, bakterie probiotyczne. Od zwierząt zostanie pobrana krew celem określenia poziomu cytokin pro- i przeciwzapalnych. Następnie zwierzęta zostaną poddane eutanazji celem pobrania jelita do oceny histopatologicznej.

Podczas wszystkich procedur eksperymentalnych zwierzęta będą poddawane czynnościom mającym łagodny lub umiarkowany wpływ na ich dobrostan. Badania prowadzone w ramach procedury 1 i 2 nie spowodują żadnych uszkodzeń i nie będą powodowały zaburzenia podstawowych funkcji fizjologicznych. Badania objęte procedura 3 będą prowadziły do powstania stanu zapalnego jelita i zaburzenia fizjologii układu pokarmowego. Zaburzenia te będą jednak miały charakter umiarkowany, a ze względu na krótki czas trwania eksperymentu nie doprowadzą do powstania długotrwałego bólu czy dystresu. W wyniku zaplanowanych badań oczekuje się bardzo istotnych korzyści i postępu w zapobieganiu powszechnie występującym schorzeniom, które ze względu na starzejące się społeczeństwu stają poważnym problemem społecznym.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mysz domowa (*Mus musculus*), szczep B6;SJL-Tg(APPSWE) – 50 samców

Mysz domowa (*Mus musculus*), szczep B6;C3-Tg(Prrp-SNCA*A53T)*3VleJ – 50 samców

Mysz domowa (*Mus musculus*), szczep C57BL/6 Ly5 – 10 samców

Mysz domowa (*Mus musculus*), szczep B6C3F1/J – 10 samców

Mysz domowa (*Mus musculus*), szczep C57BL/6NCrl – 210 samców

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

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

Przygotowując projekt badawczy, wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym sprawdzono w bazach danych:

PUBMED; ScienceDirect; Web of Science (JCR)

Wykorzystano słowa kluczowe:

probiotics and Alzheimer, probiotics and Parkinson, probiotics and DSS, probiotics and gut inflammation
Analiza bibliograficzna wykazała, iż brak jest danych eksperymentalnych o zbliżonym profilu.

Zasada zastąpienia: badanie wpływu czynników (probiotyki), które indukują złożone zmiany metaboliczne w całym organizmie, w tym mózgowiu i zachowaniu możliwe jest jedynie w modelu *in vivo*, z wykorzystaniem wybranego gatunku lub modelu transgenicznego. Tylko taki model uwzględnia cały złożony mechanizm wzajemnych oddziaływań tkanek i narządów obwodowych oraz mózgu i umożliwia ocenę zmian behawioralnych i fizjologicznych zwierząt poddanych działaniu bakterii probiotycznych. Osiągnięcie celu w proponowanym projekcie badawczym nie jest możliwe przez zastąpienie modelu *in vivo* innymi narzędziami badawczymi.

Zasada ograniczenia: liczba wykorzystywanych zwierząt w planowanych badaniach została ograniczona do minimum pozwalającego na zrealizowane zamierzonych celów. Staraliśmy się tak dobrać grupy kontrolne, aby uzyskane na ich podstawie wyniki potwierdziły dane pochodzące od grup eksperymentalnych bez konieczności wykorzystywania zbyt dużej liczby zwierząt.

Chronologiczna organizacja testów behawioralnych w taki sposób, aby nie interferowały wzajemnie ze sobą co pozwoliło na nie tworzenie osobnych grup do poszczególnych testów, a tym samym na redukcję liczby wykorzystanych zwierząt.

Zasada udoskonalenia: należy podkreślić, że proponowane przez nas procedury charakteryzują się łagodnym stopniem dotkliwości (procedura 2) lub umiarkowanym (procedura 1 i 3). Najsilniejszy dystres jakiego doświadczą zwierzęta w całym przebiegu eksperymentu to pobieranie krwi w trakcie procedury 3 oraz podanie probiotyków sondą dożołądkową. Pozostałe czynności będą przebiegać bez istotnego niekorzystnego oddziaływania na dobrostan lub ogólny stan zwierząt. Uczestniczenie w testach behawioralnych może wiązać się z wzrostem poziomu stresu, ale związanego przede wszystkim z znalezieniem się w nowym otoczeniu, ponieważ testy zostały dobrane tak aby nie były nadmiernie stresujące dla zwierząt. Taki dobór testów ma dwie istotne zalety: jest korzystny dla samopoczucia i dobrostanu zwierząt, ponieważ nie wywołuje silnego stresu, a uzyskane wyniki cechują się większą wiarygodnością. Zwierzęta utrzymywane w zwierzętarni Centrum objęte są stałą opieką weterynaryjną i w przypadku konieczności zostaną poddane humanitarnemu zakończeniu procedury (lista objawów w punkcie 10). Zwierzęta podczas trwania eksperymentu będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku, z uwzględnieniem parametrów hodowlanych takich jak temperatura, wilgotność powietrza, oświetlenie i wzbogacenia środowiska poprzez wprowadzanie dodatkowych elementów jak drewniane klocki czy rurki papierowe (procedura 3). W procedurze 1 i 2 odstąpiono od wzbogacenia środowiska celem udoskonalenia testów behawioralnych, które mogłyby zostać zaburzone przez elementy wzbogacające środowisko. Tym samym uzyskane wyniki byłyby niewiarygodne, a wykorzystane zwierzęta zostałyby poświęcone dla mało wartościowych danych.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.

☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy

☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy

☒ NIE