

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu:

Zapobieganie zmianom neurozwyrodnieniowym i motorycznym w mysich modelach choroby Parkinsona – znaczenie modyfikacji czynników ryzyka.

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

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów):

choroba Parkinsona, wysiłek fizyczny, białko tau, α -synukleina, , modele zwierzęce

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.

Parkinsonizm, w tym choroba Parkinsona (chP) i otępienie czołowo-skroniowe z zespołem parkinsonowskim powiązany z chromosomem 17 (FTDP-17), jest związany z zaburzeniami neurozwyrodnieniowymi, występującymi u osób dorosłych, które powstają w skutek heterogennych zmian neurodegeneracyjnych, prowadzących do zaburzeń motorycznych, takich jak drżenie, bradykineza oraz do deficytów poznawczych. Złożona patogeneza dotyczy różnych obszarów mózgu, agregatów białek i neuroprzekaźników. ChP cechuje się agregacją białka α -synukleiny, ubytkiem neuronów dopaminergicznych w części zbitą istotny czarnej śródmózgowia i deficytem dopaminy, manifestującym się upośledzeniem ruchu. FTDP-17 zaś powstaje w wyniku kumulacji polimerów białka tau, doprowadzającej do utraty neuronów. Nie znaleziono do tej pory terapii znacząco spowalniającej postępowanie zmian chorobowych. Jedną z kuracji jest

zastosowanie wysiłku fizycznego. Celem badań będzie zatem ocena funkcji poznawczych i wpływu treningu aerobowego zarówno na nie jak i na procesy neuroprotekcyjne, zapalne i neuroplastyczność w transgenicznym modelu chP i FTDP-17. Projekt pogłębi wiedzę o mechanizmach wpływu treningu na symptomy parkinsonizmu, co może zmodyfikować terapię i wskazać cele farmakologiczne. Planowane procedury doświadczalne nie stanowią zagrożenia dla dobrostanu testowanych zwierząt. Eksploracja naturalnego środowiska wymaga od myszy sprawności ruchowej, zdolności do uczenia się i formowania pamięci różnego typu. Zastosowane testy behawioralne wykorzystują ich wrodzone zachowania eksploracyjne i poznawcze. Warunki bytowania zwierząt będą komfortowe (wzbogacone środowisko, powiększone klatki, interakcje społeczne). W przypadku wystąpienia objawów niekorzystnych, jak znaczna utrata masy ciała lub zaburzenia zachowania (czego nie przewidujemy), opinia lekarza weterynarii zdecyduje o pozostaniu zwierząt w doświadczeniu lub poddaniu ich eutanazji, zgodnie z metodą opisaną we wniosku.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mysz (*Mus musculus*), szczep NMRI:

Linia dzika – 84 osobniki

Linia transgeniczna L66 - 84 osobniki

Mysz (*Mus musculus*), szczep C57Bl/6:

Linia dzika – 84 osobniki

Linia transgeniczna L62 - 84 osobniki

Łącznie -336- myszy

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Podczas przygotowywania projektu badawczego sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym w następujących bazach danych: PUBMED; Google Scholar; ScienceDirect; Web of Science (JRC); Agricola. Wykorzystano następujące słowa kluczowe: physical training/ aerobic training/ motor impairment/ Parkinson Disease/ Frontotemporal Dementia and Parkinsonism link to chromosome 17/ FTDP-17/ Alpha synuclein aggregation/ Alpha synuclein/ Tau aggregation/ Lewy bodies in Parkinson disease/ Paired helical filaments in Frontotemporal Dementia and Parkinsonism link

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

to chromosome 17/ tauopathy/ motor behavioural tests/ pharmacological animal models/ transgenic animal models. Na podstawie przeglądu dostępnej literatury stwierdzono, że nie było dotychczas badań dotyczących wpływu wysiłku fizycznego na zachowania motoryczne i korzystne zmiany neuroplastyczne w transgenicznym modelu choroby otępiennej, takich jak choroba Parkinsona i otępienie czołowo-skroniowe. Wykonanie tych badań zwiększy wiedzę o mechanizmach neuroprotekcji działania wysiłku fizycznego w chorobach neurodegeneracyjnych, co wzmocni zasadność stosowania ćwiczeń fizycznych, jako terapii wspomagającej w klinice tych chorób.

Mając na uwadze dobrostan zwierząt bezwzględnie będziemy stosowali zasadę 3 R, wprowadzoną w 1959 roku przez Williama Russella 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 na zwierzętach o wysokim stopniu rozwoju ewolucyjnego tzn. u ssaków.

REDUCTION - Do osiągnięcia celu badawczego zredukowaliśmy liczbę zwierząt do minimum, które jest wymagane w analizach statystycznych mających na celu uzyskanie odpowiedzi na postawiony problem badawczy.

Celem naukowym projektu jest eksploracja hipotezy wpływu treningu fizycznego na funkcje poznawcze i symptomy ruchowe leżące u ich podstaw procesy neuroprotekcji, zapalne i neuroplastyczność w chorobie Parkinsona i otępieniu czołowo-skroniowym z zespołem parkinsonowskim powiązanym z chromosomem 17. Mimo, iż wiedza dotycząca zrozumienia patomechanizmów leżących u podstaw parkinsonizmu jest stale poszerzana, nie opracowano efektywnej terapii znaczenie spowalniającej lub blokującej postępowanie niekorzystnych objawów. Wynika to z faktu, że terapie te mają na celu jedynie zwiększenie stężenia dopaminy, której deficyty obserwuje się w chP, oraz bezpośrednie oddziaływanie na receptory dopaminergiczne. Względnie niska skuteczność tych kuracji wynika z braku uwzględniania faktu zmian dotyczących także innych, niż dopamina, neurotransmiterów, jak i różnych obszarów mózgu. Z badań epidemiologicznych wynika dodatni wpływ aktywności fizycznej na redukcję ryzyka zachorowania na chorobę Parkinsona, dlatego trening fizyczny rozpatruje się jako jedną z metod neurorehabilitacji. Istnieje coraz więcej dowodów na zastosowanie wysiłku fizycznego w poprawie funkcji motorycznych w chorobie Parkinsona zarówno u ludzi, jak i w

farmakologicznych, indukowanych za pomocą neurotoksyn, modelach zwierzęcych. Nie ma tego rodzaju badań w modelach transgenicznych, lepiej naśladujących złożoność symptomów parkinsonizmu. Co więcej, modele transgeniczne umożliwiają łatwiejszą kontrolę nad nasileniem odpowiednich proteinopatii, a przez to ułatwiają precyzyjną ocenę czasu włączenia treningu. W obecnych badaniach zostaną wykorzystane mysie linie transgeniczne **Tg^{L62}** (z nadekspresją pełnej formy ludzkiej α -synukleiny) i **Tg^{L66}** (z nadekspresją pełnej formy ludzkiego białka tau z podwójną mutacją P301S/G335D), stanowiące zwierzęce odpowiedniki ludzkiej chP i FTDP-17. Dodatkowym atutem projektu jest ocena, słabo do tej pory opisanych w warunkach parkinsonizmu, funkcji poznawczych. Uzyskane w trakcie realizacji projektu wyniki stanowiąc będą nową wiedzę o potencjalnym znaczeniu w rozwoju skutecznych terapii zespołów parkinsonicznych.

(REFINEMENT). 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.

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.