

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Zbadanie wpływu zależnych od mTOR procesów translacji i autofagii na poziom białek zaangażowanych w utrzymanie prawidłowej struktury i funkcji synaps – BADANIE PILOTAŻOWE**

2. Czas trwania projektu **1 października 2018 do 30 września 2021 (3 lata)**

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) **autyzm, choroby neurorozwojowe, kwas walproinowy, mTOR, autofagia.**

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.

Autyzm oraz zaburzenia ze spektrum autyzmu (ang. autism spectrum disorders, ASDs) stanowią zróżnicowaną grupę schorzeń wynikających z nieprawidłowego rozwoju mózgu, których typowymi objawami są zaburzenia komunikacji (werbalnej i niewerbalnej) i interakcji społecznych, oraz powtarzające się, stereotypowe zachowania i zawężone zainteresowania. Schorzenie to należy do synaptopatii, tj. zaburzeń będących wynikiem dysfunkcji połączeń synaptycznych (tzw. synaps) pomiędzy neuronami. Istotną rolę w regulacji struktury i funkcji synaps, a przede wszystkim w procesach plastyczności synaptycznej pełni zorganizowana sieć interakcji pomiędzy białkami synaptycznymi. Sugeruje się, że kluczowym czynnikiem wiążącym zaburzenia translacji (powstawania) i degradacji białek synaptycznych, zaburzenia biochemiczne mózgu (zmiany w przekazywaniu wewnątrzkomórkowym i pomiędzy neuronami) oraz zaburzenia strukturalne (nieprawidłowa budowa i liczba synaps), może być szlak przekazywania kinazy mTOR, jednak niejasny jest mechanizm tej

współzależności. Kinaza mTOR uczestniczy w regulacji wielu ważnych procesów w komórce, m.in. jest enzymem kontrolującym translację i degradację białek na drodze autofagii. Celem **niniejszego projektu jest analiza roli kinazy mTOR w zmianach poziomu białek zaangażowanych w utrzymanie prawidłowej struktury i funkcji synaps w zaburzeniach ze spektrum autyzmu. W badaniach wykorzystany będzie uznany zwierzęcy model eksperymentalny, polegający na ekspozycji szczurów na działanie kwasu walproinowego (VPA) w fazie rozwoju płodowego.** Po urodzeniu zwierzęta (samce) będą przez 10 dni będą otrzymywały iniekcję inhibitora mTOR – rapamycyny, następnie poddane zostaną zestawowi testów behawioralnych analizujących zachowania charakterystyczne dla autyzmu. Wykonane zostaną także badania biochemiczne, molekularne oraz analiza morfologiczna.

Uzyskanie danych w wyniku realizacji proponowanego projektu przyczyni się do rozwoju nauki, a także pozwoli na wyznaczenie potencjalnych celów terapeutycznych (autofagia lub translacja białek zależna od mTOR) dla poszukiwania skutecznych związków farmakologicznych w leczeniu autyzmu i zaburzeń ze spektrum autyzmu. Może to przynieść wymierną korzyść dla poprawy komfortu życia chorych i ich rodzin, ma też istotny wymiar ekonomiczny.

Przewidywane szkody, jakie badania mogą spowodować u zwierząt, są umiarkowane i ograniczone do stresu i krótkotrwałego bólu związanego z iniekcją. Czynności, które mogłyby powodować ból, wykonywane będą w znieczuleniu. Pozostałe czynności nie powinny powodować dystresu.

#### 6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W przebiegu doświadczenia wykorzystane zostaną zwierzęta gatunku szczur wędrowny (*Rattus norvegicus*): 30 ciężarnych samic oraz urodzone przez nie około 160 zwierząt potomnych. W sumie 190 zwierząt.

#### 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA<sup>1</sup>

Przygotowując projekt badawczy sprawdzono stan istniejącej wiedzy w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych PUBMED, SCOPUS i Google Scholar wykorzystując słowa kluczowe: autism, autism spectrum disorders, animal models, mTOR activity.

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzam, że badanie mechanizmów i potencjalnych terapii zaburzeń spektrum autyzmu u człowieka niesie ze sobą konieczność użycia gryzoni, jako organizmów modelowych. Mnogość objawów obserwowanych u osób autystycznych przemawia za tym, że prawdopodobnie nie mają one jednego wspólnego czynnika etiologicznego. Obraz kliniczny pacjentów z ASD świadczy o globalnych zaburzeniach ośrodkowego układu nerwowego: funkcji integracyjnych, koordynacyjnych i regulacyjnych. U osób autystycznych poza głównymi nieprawidłowościami obecne są liczne zaburzenia neurofizjologiczne (repcji i regulacji odbioru bodźców sensorycznych, funkcji sensomotorycznych, planowania motorycznego, regulacji rytmu dobowego) oraz somatyczne. Wobec powyższego, złożoność ASD nie pozwala na wykorzystanie organizmów prostszych – rośliny, bezkręgowce ani na ograniczenie się do hodowli komórkowych.

Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że kinaza mTOR może, poprzez regulację procesów translacji i autofagii białek, w istotny sposób wpływać na patomechanizm zaburzeń ze

<sup>1</sup> Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

spektrum autyzmu.

Brak jest danych dotyczących wpływu zależnych od mTOR procesów translacji i autofagii na białka zaangażowane w utrzymanie prawidłowej struktury i funkcji synaps.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na wyznaczenie celów terapeutycznych (autofagia lub translacja białek zależna od mTOR) dla poszukiwania skutecznych związków farmakologicznych w leczeniu autyzmu i zaburzeń ze spektrum autyzmu. Może to przynieść wymierną korzyść dla poprawy komfortu życia chorych i ich rodzin, ma też istotny wymiar ekonomiczny.

#### ZASADA ZASTĄPIENIA

Po przeszukaniu baz danych dotyczących metod alternatywnych ograniczających liczbę zwierząt bądź całkowicie je wykluczających, wobec braku odpowiednich modeli nie-zwierzęcych postanowiono zrealizować plan badawczy z wykorzystaniem najmniejszej z możliwych liczby zwierząt, która zapewni osiągnięcie celu badawczego i statystycznego, ze szczególną dbałością o stosowanie zasad 3R.

#### ZASADA OGRANICZENIA

Zaplanowana w doświadczeniu ilość zwierząt jest najmniejszą z możliwych do przeprowadzenia badań i uzyskania wiarygodnych wyników potwierdzonych metodami statystycznymi. Minimalną liczbę osobników do eksperymentów wyznaczono wykorzystując nomogram Altmana, przy założeniu 95% mocy testu i poziomu istotności 0,05. Do badań wybrano zwierzęta laboratoryjne o pożądanym cechach.

#### ZASADA UDOSKONALENIA

Wykorzystywane zwierzęta będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku, a metody badawcze zastosowane w procedurach zostały wybrane tak, aby ograniczały do minimum albo eliminowały ból, cierpienie, dystres lub możliwość trwałego uszkodzenia organizmu tych zwierząt. Zwierzęta poddane ingerencji chirurgicznej będą otrzymywały środki przeciwbólowe, a w razie pogorszenia się ich stanu zdrowia zostaną wyłączone z procedury przez humanitarne uśmiercenie.

### 8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną<sup>2</sup>

- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- ☐ NIE

---

<sup>2</sup> Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.