

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **.Elektrofizjologiczna charakterystyka wzajemnych połączeń wzgórza i kory w mysim modelu autyzmu – doświadczenia *in vitro* i w znieczuleniu ogólnym.**
2. Czas trwania projektu 15. luty 2019 – 30. lipca 2021 (2,5 roku)
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): autyzm,, nadwrażliwość czuciowa, połączenia wzgórzowo-korowo-wzgorzowe
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.

Jedna z teorii dotyczących autyzmu zakłada, że za część jego objawów odpowiada nadwrażliwość zmysłowa. Zbyt silne wzbudzenie układu nerwowego powoduje, że nawet neutralne (delikatne) bodźce wywołują emocjonalne, awersyjne reakcje i prowadzą do ograniczania interakcji ze środowiskiem w tym ograniczenie interakcji społecznych.

Celem proponowanych badań jest weryfikacja hipotezy, że nadwrażliwość zmysłowa w autyzmie jest związana z nadmierną aktywnością wyższorzędowych jąder wzgórza i ich wzajemnych połączeń z korą mózgu. W badaniach wykorzystany będzie mysz model zespołu łamliwego chromosomu X (jeden z zespołów genetycznych, w którym występują objawy autyzmu), który dobrze odtwarza zaburzenia czuciowe występujące u ludzi z autyzmem. W badaniach planujemy dwie procedury badawcze, w obu wszystkie zabiegi prowadzone będą w znieczuleniu ogólnym.

Planujemy sprawdzenie, czy w mysich modelach autyzmu, w układzie czuciowym występują zmiany **(1)** rozkładu włókien wzgórzowych w korze (badania histologiczne na tkankach mózgu); **(2)** zmiany wzajemnych połączeń synaptycznych jąder wyższorzędowych i kory (rejestracje elektrofizjologiczne na tkankach mózgu); **(3)** zmiany siły odpowiedzi na naturalne bodźce dotykowe we wzgórzu i korze i wzajemnych interakcji tych obszarów (wielokanałowe rejestracje elektrofizjologiczne w znieczuleniu ogólnym).

Doświadczenia mają charakter badań podstawowych; poszerzą naszą wiedzę na temat przyczyn autyzmu, dzięki czemu w dalszej perspektywie mogą przyczynić się do rozwoju strategii terapeutycznych.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mysz, 340 osobników

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

ZASADA ZASTĄPIENIA. Badania histologiczne i elektrofizjologiczne rejestracje dotycząca pytań o charakterystykę połączeń

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

synaptycznych jąder wzgórza i kory mózgu będzie prowadzona *in vitro* na wzgórzowo-korowych skrawkach mózgu.

ZASADA ORGANICZENIA. Dla minimalizowania inwazyjności prowadzonych badań *in vivo* podstawowa ocena aktywności badanych struktur i zależności między nimi zostanie zbadana w mało-inwazyjnych doświadczeniach prowadzonych w znieczuleniu ogólnym. Liczba zwierząt w grupie została wyliczona tak aby uzyskać statystycznie wiarygodną odpowiedź czy amplituda rejestrowanych sygnałów różni się u zwierząt transgenicznych (model autyzmu) w porównaniu do zwierząt bez mutacji z tego samego szczepu myszy. Liczba koniecznych do zbadania grup została ograniczona dzięki zaplanowaniu wielokanałowe rejestracji jednocześnie z kilku struktur badanej sieci połączeń.

ZASADA UDOSKONALENIA jest realizowana na poziomie zapewnienia najlepszych warunków bytowania zwierząt i opieki około-zabiegowej: dystres i ból u zwierząt doświadczalnych będzie minimalizowany przez stosowane środków przeciwbólowych i antybiotyków. Podczas zabiegów zwierząt będzie stale monitorowane, będą oddychać powietrzem wzbogaconym w tlen, będą nawadniane i utrzymywane w cieple. Po zabiegu, do momentu wybudzenia, zwierzę pozostanie pod stałą kontrolą eksperymentatora, w dogrzewanej klatce a lek przeciwbólowy oraz antybiotyk będzie podawany jeszcze przez 3 dni po zabiegu. **Zasada udoskonalania** zostanie także zrealizowana przez zastosowanie najnowszej metodyki badawczej. Metoda optogenetyczna daje możliwość bardzo precyzyjnego pobudzania lub hamowania wybranej populacji neuronów i umożliwia analizowanie jej wpływu na funkcjonowanie pozostałych elementów badanej sieci neuronalnej. Wielokanałowa rejestracja dostarczy dużą ilość danych i pozwoli na zastosowania najnowszych metod matematycznej analizy identyfikujących lokalizację prądowych źródeł sygnału (analiza gęstości źródłowej prądu); zależności przyczynowo-skutkowych między badanymi strukturami (cross-trial correlation, metody oparte o przyczynowość Granger); rozpoznawanie charakterystycznych cech sygnału (deep learning). Analizy prowadzone będą we współpracy ze specjalistami z zakresu neuroinformatyki.

Przygotowując projekt, korzystano z klasycznej literatury dotyczącej układu czuciowego oraz sprawdzano najnowszą wiedzę dotyczącą neuronalnego podłoża dysfunkcji zmysłowych w autyzmie. W bazach danych PUBMED, ScienceDirect, Google Scholar podano słowa kluczowe, takie jak: autism models, sensory hypersensitivity in autism, somatosensory thalamus, higher order thalamus, PoM, thalamo-cortical connections, cortico-thalamic connections, autism and sensory processing.

„Intense world theory of autism” to teoria zakładająca, że jednym z kluczowych problemów autyzmu jest nadwrażliwość zmysłowa. Zbyt silne wzbudzenie układu nerwowego powoduje, że neutralne (delikatne) bodźce wywołują emocjonalne, awersyjne reakcje i prowadzą do ograniczania interakcji ze środowiskiem w tym ograniczenia interakcji społecznych. Neuronalne mechanizmy nadwrażliwości zmysłowej nie są dostatecznie poznane. Część genów związanych z autyzmem odpowiada za prawidłowy rozwój synaps i połączeń nerwowych, nie wiemy jednak jakich dokładnie struktur i połączeń dotyczą te zmiany. Aby odpowiedzieć na te pytania, konieczne jest prowadzenie badań wykorzystujących genetyczne zwierzęce modele odtwarzające objawy autyzmu. Najnowsze badania elektrofizjologiczne i obrazowanie optyczne potwierdziły, że w mysich modelach autyzmu – w tym w modelu łamliwego chromosomu X (szczep myszy FVB.129-Fmr1tm1Rbd/J) – występują zaburzenia precyzyjnego rozpoznania bodźców dotykowych i słuchowych, siła odpowiedzi jest silniejsza i obszar reprezentacji korowych jest większy niż u zwierząt kontrolnych.

Takie objawy mogą wynikać ze zmian połączeń wzgórzowo-korowo-wzgórzowych w szczególności z nadmiernego pobudzenia tzw. wyższorzędowych jąder wzgórza, przekazujących mniej precyzyjne informacje do znacznie większych obszarów kory. Ponadto mają one bezpośrednie połączenia z obszarami odpowiedzialnymi za reakcje emocjonalne. Ich pobudzenie prowadzi do nasilenia odpowiedzi w korze oraz wyzwala reakcje emocjonalne i ruchowe. Badania ostatnich lat wskazują, że w mysich modelach autyzmu faktycznie występują zmiany w połączeniach korowo-wzgórzowych.

Celem proponowanych badań jest histologiczna i elektrofizjologiczna weryfikacja hipotezy, że w autyzmie struktura wzajemnych połączeń wyższorzędowych jąder wzgórza z korą mózgu skutkuje ich nadmiernym pobudzeniem. Planujemy sprawdzenie, czy w mysich modelach autyzmu (w pierwszej kolejności w modelu łamliwego chromosomu X, szczep myszy FVB.129-Fmr1tm1Rbd/J), w układzie czuciowym (wibrykowo-baryłkowym) występują zmiany (1) rozkładu włókien wzgórzowych w korze (badania histologiczne *ex vivo*); (2) zmiany wzajemnych połączeń synaptycznych jąder wyższorzędowych i kory (rejestracje patch-clamp *in vitro*); (3) zmiany siły odpowiedzi na naturalne bodźce dotykowe we wzgórzu i korze i wzajemnych interakcji tych obszarów (wielokanałowe rejestracje *in vivo* w znieczuleniu ogólnym).

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

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

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

X NIE