

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „Ocena zachowań autystycznych indukowanych ekspozycją na kwas walproinowy u larw ryb danio pręgowanego *Danio rerio*”

2. Czas trwania projektu 01.07.2019 – 30.06.2020 (1 rok)

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) autyzm, *Danio rerio*, behavior, kwas walproinowy

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.

Głównym celem badań jest rozwój modelu autyzmu u larw *Danio rerio* jako platformy do badań zaburzeń neurorozwojowych. *Danio rerio* ze względu na genetyczne i fizjologiczne podobieństwo do człowieka oraz podobieństwo morfologiczne stadiów rozwojowych centralnego układu nerwowego jest nowym i efektywnym modelem w badaniach nad neurobiologią autyzmu. Charakteryzujący się wysoką wydajnością model autyzmu u *Danio rerio* umożliwi badanie wpływu związanych z patogenezą autyzmu toksyn środowiskowych i mutacji genetycznych na dynamikę organizacji sieci neuronalnych i zmian biochemicznych rozwijającego się mózgu. Wyniki najnowszych doniesień naukowych potwierdzają, że ekspozycja larw *Danio rerio* na kwas walproinowy (używanego jako toksyna środowiskowa) prowadzi do zmian morfologicznych, metabolicznych rozwijającego się mózgu, oraz fenotypowych zmian behawioralnych związanych z objawami autyzmu. Obserwacja pływania w pobliży ścian dołka w którym umieszczona jest larwa (tigmotaksja) (Procedura 1) i pływania wirowego (Procedura 2) oraz reakcja na nieprzyjemny bodziec (Procedura 3) będzie podstawą oceny zachowań autystycznych u 7-dniowych larw *Danio rerio*.

Ustalenie modelu autyzmu pozwoli na uzyskanie podstawy do badań nad wpływem substancji modyfikujących

metabolizm tryptofanu na fenotyp, morfologię i metabolom mózgu w modelu autyzmu *Danio rerio*.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniach zostaną wykorzystane 7 dniowe larwy *Danio rerio*. Liczba zwierząt wynosi 376 osobników.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy sprawdziłam istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych PubMed, Scopus oraz Web of Science (JCR).

Wykorzystałam następujące słowa kluczowe:
autyzm, *Danio rerio*, behawior, kwas walproinowy

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że:

- A. Nagromadzony materiał badawczy wskazuje na uzasadnione stosowanie modelu autyzmu indukowanego u larw *Danio rerio* w badaniach behawioralnych.
- B. Brak jest danych behawioralnych dotyczących mechanizmów zaangażowanych w rozwój autyzmu u larw *Danio rerio*.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

- A. uzyskanie modelu autyzmu jako platformy do badań zaburzeń neurorozwojowych.

ZASADA 3R

1. Udoskonalanie

Zastosowanie odpowiedniej liczby larw pozwoli na zredukowanie rozrzutu otrzymanych wyników.

Jednocześnie zastosowane metody badawcze zostały wybrane tak, aby ograniczyć do minimum albo eliminować ból, cierpienie, dystres. Zwierzęta w całym okresie doświadczalnym będą przebywały pod opieką doświadczonego personelu, w ściśle określonych warunkach laboratoryjnych. Nie jest możliwe w przypadku larw do 7 dpf wzbogacenie środowiska, gdyż przetrzymywane będą one w szalkach Pertiego lub płytkach 24 dołkowych, gdzie niemożliwe jest umieszczenie wzbogacenia.

2. Ograniczenie

W doświadczeniu zaplanowano użycie 376 larw *Danio rerio*. Liczba wykorzystanych zwierząt została ograniczona do poziomu niezbędnego do osiągnięcia celów, czyli oceny działania badanych związków. Zaplanowana liczba zapewnia powtarzalność pomiarów i minimalizuje zmienność, pozwalając na ograniczenie ilości wykorzystywanych zwierząt do niezbędnego minimum.

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

Jednocześnie precyzyjna i przemyślana grupa kontrolna z użyciem nośnika poprawia jakość i dokładność wyników, co pozwala na zmniejszenie ilości wykorzystanych zwierząt.

3. Zastąpienie

W celu ustalenia modelu autyzmu nie można zastosować metody, bez udziału zwierząt. Zastosowanie zwierząt w planowanym doświadczeniu pozwoli na poznanie działania badanych substancji na cały organizm i będące podstawą jego funkcjonowania - tkanki, a także wzajemne interakcje między nimi. Jest to niemożliwe przy zastosowaniu procedur *in vitro*, m. in. hodowli tkankowych.

Planowane badania należą do grupy badań podstawowych, mających na celu poznanie efektów działania badanych związków, stąd też nie ma możliwości zastąpienia zwierząt metodami alternatywnymi..

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.