

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: **Molekularne mechanizmy leżące u podłoża połączenia jelito-mózg w zaburzeniach ze spektrum autyzmu. Potencjalna rola probiotyków w leczeniu autyzmu.**

2. Czas trwania projektu: **24 maj 2017 – 24 maj 2020 (4 lata)**

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): **autyzm, ASD, probiotyki, 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 i zaburzenia spektrum autyzmu (**autism spectrum disorders, ASD**) to całościowe zaburzenia rozwoju objawiające się dysfunkcją w interakcjach społecznych i komunikacji. Mimo wysiłków kierowanych na poznanie biologicznego podłoża ASD jego etiologia jest nieznana. Współwystępowanie zaburzeń w obrębie jelit oraz ASD wskazuje na istnienie zależności i interakcji w obrębie tzw. osi mózg-jelita-mikrobiota, szlaku komunikacyjnego łączącego jelita i jelitową florę bakteryjną z ośrodkowym układem nerwowym (OUN). Liczne badania wskazują na wpływ mikrobioty na OUN poprzez modulację stężenia cytokin pro- i przeciwzapalnych, tryptofanu – prekursora serotoniny oraz licznych neuromediatorów. **Celem nadrzędnym projektu jest zbadanie zależności pomiędzy jelitową florą bakteryjną, a funkcjonowaniem OUN oraz zbadanie potencjału suplementacji probiotykami i farmakologicznej aktywacji autofagii w terapii autyzmu.** Cele szczegółowe obejmują zbadanie wpływu suplementacji probiotykami oraz farmakologicznej aktywacji autofagii na: zachowanie zwierząt, markery stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego, dynamikę i funkcje mitochondriów oraz ekspresję i poziom białek synaptycznych.

Badania prowadzone będą na materiale uzyskanym z krwi i mózgów szczurów, których matki w czasie ciąży poddane były ekspozycji na kwasu walproinowy (VPA). Zwierzętom potomnym będą doustnie podawane odpowiednio: probiotyki lub Werapamil (aktywator autofagii), a następnie zwierzęta poddane zostaną zestawowi odpowiednio dobranych testów behawioralnych. W 55 dniu życia zwierzętom

zostanie pobrana krew i niezwłocznie będą uśmiercane w celu wyizolowania mózgu do dalszych analiz. Procedury wykonywane będą wyłącznie w celu prowadzenia badań podstawowych w rozumieniu art. 2 pkt 3 lit. a ustawy z dnia 30 kwietnia 2010 r. o zasadach finansowania nauki (Dz. U. z 2014 r. poz. 1620).

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

W przebiegu doświadczenia wykorzystane zostanie: 40 ciężarnych samic oraz urodzone przez nie 440 zwierząt potomnych. W sumie 480 zwierząt.

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

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.

Przygotowując projekt sprawdzono istniejący stan wiedzy w zakresie objętym wnioskiem badawczym. Na podstawie najnowszej literatury stwierdzono, że ASD to obecnie najbardziej rozpowszechniona grupa zaburzeń neurorozwojowych. Częstość ich występowania na rok 2010 wynosiła 1 na 88 urodzeń (w tym 1 na 5 chłopców) i liczba ta stale rośnie. Brak jest skutecznej metody leczenia, a dostępne terapie pozwalają jedynie na łagodzenie objawów ASD. Obserwowana mnogość objawów autystycznych przemawia za tym, że prawdopodobnie nie mają one jednego wspólnego czynnika etiologicznego, a obraz kliniczny pacjentów z ASD świadczy o globalnych zaburzeniach ośrodkowego układu nerwowego: funkcji integracyjnych, koordynacyjnych i regulacyjnych. Badanie mechanizmów ASD i potencjalnej terapii zaburzeń niesie za sobą konieczność użycia gryzoni jako organizmów modelowych. Wobec powyższego, **złożoność ASD nie pozwala na wykorzystanie organizmów prostszych** – rośliny, bezkręgowce ani na ograniczenie się do hodowli komórkowych.

Zaplanowana w doświadczeniu **ilość zwierząt jest najmniejszą z możliwych** do przeprowadzenia wiarygodnych badań statystycznych. Minimalną liczbę osobników do eksperymentów przyjęto metodę doboru próby (kalkulator doboru próby: <http://www.naukowiec.org/dobor.html>).

Wykorzystane zwierzęta będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku w klatkach o tzw. „środowisku wzbogaconym”. 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 (dekapitację).

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