

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu "Identyfikacja genów i szlaków sygnałowych aktywujących proliferację i różnicowanie komórek macierzystych kanału centralnego w wyniku urazu rdzenia kręgowego szczura".

2. Czas trwania projektu 10.12.2020 - 10.12.2023

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) szczur paraplegiczny, komórki macierzyste kanału centralnego, ependymalne komórki macierzyste, globalna analiza ekspresji genów, mikrodysekcja laserowa

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.

W rdzeniu kręgowym zwierząt i człowieka występuje nisza komórek macierzystych, mogących stanowić źródło endogennych komórek w terapii uszkodzeń rdzenia kręgowego. Proliferacja i różnicowanie tych komórek znacząco rośnie w wyniku urazu, zaś poznanie mechanizmów zaangażowanych w te procesy może pomóc w opracowaniu terapii uszkodzeń rdzenia.

Celem badań będzie zidentyfikowanie genów, których ekspresja zmienia się w populacji komórek macierzystych kanału centralnego rdzenia szczura w wyniku urazu, i które mogą być zaangażowane w regulację mechanizmów proliferacji i różnicowania tych komórek. Wytypowane geny oraz produkty ich ekspresji będą mogły być następnie modulowane, aby zmienić profil różnicowania tych komórek w kierunku neuronów serotoninowych w celu restytucji utraconych funkcji ruchowych.

Komórki kanału centralnego szczurów kontrolnych oraz szczurów 5 dni po uszkodzeniu zostaną pobrane przy użyciu techniki mikrodysekcji laserowej. Procedura całkowitego przecięcia rdzenia

kręgowego zostanie przeprowadzona wg. protokołu stosowanego rutynowo w naszej pracowni. Z pobranych komórek zostanie wyizolowane RNA, które poddane będzie sekwencjonowaniu nowej generacji w celu wytypowania genów odpowiedzialnych za aktywację proliferacji i różnicowania tych komórek po urazie rdzenia.

Procedura całkowitego przecięcia rdzenia kręgowego spowoduje porażenie kończyn tylnych, oraz zniesienie czucia poniżej miejsca urazu. U zwierząt w okresie kilku dni po uszkodzeniu wystąpią problemy z samodzielnym oddawaniem moczu, co wymagać będzie pomocy w opróżnianiu pęcherza. Niemniej jednak szczury paraplegiczne są w stanie samodzielnie przemieszczać się z wykorzystaniem kończyn przednich. Nie prezentują też żadnych objawów dyskomfortu bólowego. Zwierzęta nie są osowiałe, nie okazują dyskomfortu ani agresji. Po zabiegu zwierzęta nie wymagają przetrzymywania w pojedynczych klatkach, co znacząco ogranicza stres spowodowany separacją.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Badanie będzie przeprowadzone z użyciem 28 samic szczurów wędrownych szczepu wsobnego WAG (Wistar Albino Glaxo).

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam/sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: __EBSCO; __X_PUBMED; __Google Scholar; __AGRICOLA; __ScienceDirect; __X_Web of Science (JCR); _

Wykorzystałam/em słowa kluczowe: : paraplegic rat, spinal cord central canal stem cells, ependymal stem cells, NGS, global gene expression analysis, laser capture microdissection (szczur paraplegiczny, komórki macierzyste kanału centralnego, ependymalne komórki macierzyste, NGS, globalna analiza ekspresji genów, mikrodyssekcja laserowa).

Na podstawie przeglądu istniejącej literatury, stwierdzam że:

- zaplanowane doświadczenie nie jest powtórzeniem wykonanych wcześniej badań
- w literaturze tematu brak jest informacji na temat różnic w globalnej ekspresji genów w komórkach kanału centralnego rdzenia pobranych od szczurów nieuszkodzonych i szczurów po całkowitym przecięciu rdzenia na poziomie piersiowym
- w literaturze tematu brak jest danych dotyczących różnic w globalnej ekspresji genów w komórkach kanału centralnego rdzenia pobranych od szczurów nieuszkodzonych i szczurów po całkowitym przecięciu rdzenia na poziomie piersiowym.

A/ Rozwinięcie teoretyczne i poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku uzyskania informacji na temat

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

szlaków sygnałowych odpowiedzialnych za różnicowanie i proliferację komórek macierzystych kanału centralnego dorosłego szczura zachodzących po uszkodzeniu rdzenia kręgowego.

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy może przyczynić się do opracowania nowych strategii naprawczych, których celem ma być wspomaganie restytucji funkcji lokomocyjnych utraconych w wyniku urazu rdzenia kręgowego u ssaków.

Zasada ZASTĄPIENIA: Ze względu na charakter badanych procesów nie jest możliwe przeprowadzenie doświadczeń bez udziału zwierząt z wykorzystaniem metod alternatywnych (np. linii komórkowych).

Zasada OGRANICZENIA: Badanie zaplanowano tak, aby uzyskać rzetelne i wiarygodne wyniki przy użyciu jak najmniejszej liczby zwierząt. W celu ograniczenia liczby zwierząt badania zaplanowano tak by gwarantowały otrzymanie odpowiedzi na najbardziej istotne pytania dotyczące badanego zjawiska.

Zasada UDOSKONALENIA: Badania będą prowadzone przez osoby z wieloletnim doświadczeniem w pracy ze zwierzętami, posiadających odpowiednie przeszkolenie i kwalifikacje (procedura całkowitego przecięcia rdzenia kręgowego na poziomie piersiowym jest od wielu lat stosowana w naszej pracowni w ramach badań funkcjonowania odizolowanej od struktur nadrdzeniowych sieci centralnego generatora wzorca lokomocji). Użyte w procedurze zwierzęta będą miały zapewnione odpowiednie warunki bytowe (odpowiednia temperatura i wilgotność, oraz stały dostęp do wody i pożywienia). Do klatek, w których będą przebywać dodane zostaną przedmioty wzbogacające środowisko, umożliwiające budowę gniazda oraz służące do zabawy, np. tekturowe rolki. Na każdym etapie procedur stres i dyskomfort, który ewentualnie mogą odczuwać zwierzęta, zostaną ograniczone do minimum.

Proponowana we wniosku procedura jest od wielu lat z powodzeniem stosowana zarówno w naszej pracowni jak i przez innych badaczy w celu badania funkcji sieci rdzenia kręgowego. Ból i cierpienie zwierząt zostanie zredukowany poprzez zastosowanie silnego opioidowego środka przeciwbólowego (Butomidol) oraz środka przeciwzapalnego i przeciwbólowego (Tolfedine), a także zminimalizowanie czasu utrzymania zwierząt do minimum niezbędnego do zaindukowania proliferacji i różnicowania komórek macierzystych kanału centralnego rdzenia kręgowego szczura (5 dni co zgodnie z danymi literaturowymi jest czasem wystarczającym do zaindukowania proliferacji komórek).

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.