

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „Rola receptorów Fas/FasL w patogenezie zapalenia w układzie nerwowym wywołanego zakażeniem herpeswirysem typu 1 i 2”

2. Czas trwania projektu .. 01.10. 2018 – 31.12.2021.....

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) zapalenie mózgu, zapalenie rdzenia kręgowego, HSV-1, HSV-2

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.

Projekt zakłada wykorzystanie mysiego modelu zakażenia HSV-1 oraz HSV-2, naśladującego naturalne drogi zakażenia do zbadania roli szlaku receptora śmierci Fas i jego liganda, FasL, w rozwoju i eliminacji zapalenia obserwowanego podczas zakażenia obwodowego oraz ośrodkowego układu nerwowego przez odpowiednio, HSV-2 oraz HSV-1. Wirusy opryszczki: HSV-1 – (Herpes Simplex Virus – 1) oraz HSV-2 (Herpes Simplex Virus – 2) wywołują chorobę zakaźną dotykającą około 60-80% osób na świecie. Wirusowe zapalenie mózgu jest najczęstszą przyczyną wszystkich zapaleń mózgu, zaś HSV jego najczęstszym czynnikiem etiologicznym. Zapalenie mózgu wywołane przez HSV – herpes simplex encephalitis (HSE) uważane jest za jedną z najpoważniejszych chorób wirusowych układu nerwowego. Odsetek zgonów w przypadku pacjentów z prawidłowo wdrożonym leczeniem sięga 30%, natomiast w przypadku pacjentów nieleczonych osiąga aż 70%. U znacznej części chorych HSE pozostawia jednak trwale zaburzenia neurologiczne, a tylko 2–5% pacjentów powraca do pełnego zdrowia. Uważa się, że

zaburzenia neurologiczne są konsekwencją chronicznych stanów zapalnych wywołanych zakażeniem. Wyniki projektu powinny pomóc w lepszym zrozumieniu mechanizmów rozwoju opryszczkowego zapalenia mózgu, oraz innych stanów zapalnych w obrębie ośrodkowego układu nerwowego, a w przyszłości umożliwić opracowanie nowych metod leczenia stanów zapalnych mózgu.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W projekcie wykorzystany zostanie mysz model zakażenia donosowego HSV-1 (procedura 1) oraz zakażenia dopochwowego HSV-2 (procedura 2) z wykorzystaniem myszy C57BL6 oraz myszy szczepów kongenicznych z mutacją w receptorze Fas (szczep B6.MRL-Faslpr/J) oraz FasL (szczep B6Smn.C3-Faslgl/J). Maksymalna liczba myszy, które planuje się wykorzystać w przedstawionych badaniach projektu to 504.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: PUBMED i Google Scholar, wykorzystując słowa kluczowe: herpes simplex virus, encephalitis oraz Fas.

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że brak jest danych dotyczących roli szlaku receptorowego Fas/FasL w patogenezie zapalenia mózgu wywołanego zakażeniem wirusem herpes simplex 1 oraz herpes simplex 2. Nie przeprowadzono badań z użyciem mysiego modelu zakażenia HSV-1 oraz HSV-2, natomiast istnieją przesłanki, że szlak receptorowy Fas/FasL może regulować wielkość nacieku zapalnego w przebiegu zakażenia ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego. Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na rozwinięcie istniejącej wiedzy w kierunku podłoża zniszczeń wywołanych przez zakażenie ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego przez herpeswirusy.

Zasada zastąpienia

W celu uwzględnienia w doświadczeniu zasady 3R, posłużono się modelem linii komórkowej mysich komórek mikrogleju SIM-9 oraz linii mysich astrocytów C8-D1A do określenia wpływu zakażenia wirusem HSV-1 oraz HSV-2 na poziom ekspresji receptorów Fas i FasL oraz na wrażliwość zakażonych linii komórkowych na śmierć w wyniku aktywacji szlaku receptorowego. Badania wykazały, że zarówno komórki mikrogleju, jak i komórki astrocytów zakażone oba rodzajami wirusa zmieniają ekspresję obu białek Fas i FasL oraz produkują cytokiny i chemokiny prozapalne pod wpływem aktywacji szlaku receptorowego. Pozwoliło to potwierdzić domniemaną rolę szlaku receptorowego w regulacji lokalnego stanu zapalnego tkanki podporowej układu nerwowego, jaką są komórki gleju oraz mikrogleju. Wstępne badania pozwoliły ograniczyć liczbę rodzajów przeprowadzanych testów do 5 z planowanych wcześniej

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

8 (dodatkowe pomiary dla kilku różnych dawek wirusa). Pozwoliło to na zmniejszenie liczby wykorzystanych zwierząt z ponad 800 do 504 myszy.

Zasada ograniczenia

Wniosek opisuje doświadczenia zaplanowane do przeprowadzenia w ciągu 3 lat i dotyczy bardzo wielu aspektów stanów zapalnych ośrodkowego oraz obwodowego układu nerwowego w zakażeniu herpeswirusami, których patogenezą jest bardzo słabo zbadana. Ilość eksperymentów oraz zwierząt została tak zaplanowana, aby prawidłowa analiza statystyczna była możliwa. Przyjmuje się, że moc testu powinna być przynajmniej na poziomie 0,8, a częstość popełnienia błędu odrzucenia hipotezy zerowej α nie większa niż 0,05. Standardowo grupy badawcze będą liczyć 7 osobników.

Wyjątek stanowi doświadczenie mające na celu porównanie poziomów wiremii dla dwóch dawek zakaźnych, gdzie sugerowana liczba zwierząt wynosi 10 dla różnic średnich 120.

Zasada udoskonalenia

Wszelkie niezbędne starania będą poczynione, aby utrzymać dobrostan zwierząt laboratoryjnych na odpowiednim poziomie. Wszelkie niezbędne starania będą poczynione, aby utrzymać dobrostan zwierząt laboratoryjnych na odpowiednim poziomie. Wykorzystywane zwierzęta będą utrzymywane w indywidualnie wentylowanych klatkach. Zaproponowane procedury będą miały niski stopień inwazyjności (łagodny i umiarkowany) ograniczając do minimum ból, cierpienie, dystres lub możliwość trwałego uszkodzenia organizmu. Procedury będą wykonywane przez przeszkolony personel, przeważnie z wieloletnim doświadczeniem.

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.