

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: **Badanie wpływu postępującej neurodegeneracji układu noradrenergicznego na funkcjonowanie układu dopaminowego w kontekście presymptomatycznej fazy choroby Parkinsona.**

2. Czas trwania projektu: **3 lata**

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): **TIF-1A, choroba Parkinsona, system noradrenergiczny, myszy transgeniczne, neurodegeneracja**

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.

Celem projektu jest określenie wpływu postępującej neurodegeneracji komórek noradrenergicznych w mechanizmie rozwoju choroby Parkinsona. Planujemy uzyskać wyciszenie ekspresji genu *Rrn3* w strukturach mózgu myszy, poprzez zastosowanie u nich genetycznych manipulacji. W efekcie uzyskamy eliminację czynnika transkrypcyjnego TIF-1A (istotny czynnik regulujący aktywność polimerazy I), doprowadzając do neurodegeneracji w wybranych populacjach komórek neuronalnych w strukturach mózgowych. Po biochemicznej weryfikacji czy modyfikacja genetyczna istotnie wywołuje zakładane przez nas zmiany, planowane jest przeprowadzenie serii testów behawioralnych pozwalających opisać zachowanie zwierząt w kontekście rozwoju chorób neurodegeneracyjnych. Pozwoli to na stwierdzenie, czy oraz w jakim stopniu, degeneracja wybranych przez nas typów komórek wpłynie na degenerację układu dopaminowego, który ma kluczowe znaczenie w rozwoju choroby Parkinsona. Jeżeli stwierdzone zostaną różnice pomiędzy zwierzętami z uruchomioną

progresywną neurodegeneracją neuronów a zwierzętami kontrolnymi, podjęta zostanie próba uchwytu wczesnych markerów choroby. Obecny projekt pozwoli również na powiązanie zmian molekularnych z profilem zachowania. Wyniki naszych badań mogą dać możliwość rozwoju nowych metod diagnostycznych oraz wskazać cele dla farmakoterapii zaburzeń związanych z chorobą Parkinsona.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mysz domowa, liczba zwierząt 390 osobników

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Projekt został przygotowany zgodnie z wprowadzoną w 1959r. przez W. Russela i R. Burcha zasadę 3R.

Zastąpienie

Ze względu na planowane zbadanie zmian zachowania oraz złożoność połączeń nerwowych w mózgu, w tym roli poszczególnych struktur, nie jest możliwe zastąpienie proponowanego modelu myszy transgenicznymi zwierzętami o niższym stopniu rozwoju ewolucyjnego, ani też modelami *in vitro*.

Ograniczenie

Liczbę zwierząt ograniczono do koniecznego minimum, które pozwoli na wiarygodną analizę statystyczną i weryfikację postawionego problemu badawczego (15 zwierząt/grupę). Procedury wykorzystania zwierząt zaplanowana została tak, żeby wykorzystać tę samą kohortę na różne testy behawioralne (o ile nie wpływa to negatywnie na dobrostan zwierząt i wiarygodność danych). Wygenerowany przez nas model transgeniczny charakteryzuje się stałością zmian w czasie, dzięki czemu te same zwierzęta mogą zostać poddane procedurom behawioralnym, a pobrane z nich tkanki analizom biochemicznym, co znacząco ograniczy liczbę zwierząt w projekcie.

Udoskonalenie

Wykorzystany w poprzednich eksperymentach model transgeniczny TIFDBH^{Cre} posiadał mutację nie tylko w ośrodkowym układzie nerwowym, ale również obwodowo (nadnercza), co miało wpływ na krótszą przeżywalność zwierząt. W naszych badaniach zastosujemy udoskonalony model zwierzęcy z indukowaną mutacją somatyczną (wprowadzony wektor wirusowy), który będzie wykazywał mutację tylko w komórkach przez nas celowanych, co umożliwi w precyzyjny sposób określenie znaczenia układu noradrenergicznego w rozwijającej się chorobie Parkinsona. Zastosowanie wektora wirusowego z systemem CRISPR to najnowocześniejsza dostępna metoda uzyskania zwierząt transgenicznymi. Pozwoli ona na osiągnięcie celów projektu przy ograniczeniu liczby zwierząt i procedur eksperymentalnych. Do oceny behawioru zostanie wykorzystana nowoczesna specjalistyczna aparatura eliminująca subiektywizm eksperymentatora. Badania biochemiczne będą wykonane nowoczesnymi metodami (Real Time PCR, Immunohistochemia, Western Blot, Mikromacierze).

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

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

☒ 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.