

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1.Tytuł projektu: **Utworzenie modelu zwierzęcego lokalnej demielinizacji o charakterze autoimmunologicznym na potrzeby badań z zakresu chorób demielinizacyjnych**

2.Czas trwania projektu: **15.08.2019 – 30.06.2022**

3.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): **demielinizacja, terapia komórkowa, dotętnicze podanie, stwardnienie rozsiane**

4.Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): **B- Badania translacyjne lub stosowane**

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.

Jedną z najbardziej rozpowszechnionych chorób demielinizacyjnych jest stwardnienie rozsiane (MS)-choroba, której przyczyny są w znacznym stopniu nieznane, a leczenie polega jedynie na łagodzeniu objawów. Mimo, że dostępnych jest kilka leków stosowanych w terapii MS, ich specyficzność oraz skuteczność są niewystarczające. Zgodnie ze standardami wprowadzania nowych klas leków, badania kliniczne są poprzedzone badaniami na zwierzętach. Niestety większość obiecujących wyników prac przedklinicznych nie przekłada się na efekty kliniczne.

Wciąż, najpopularniejszy model MS to ten z użyciem gryzoni, co jest uzasadnione mnogością zalet, m.in. łatwość prowadzenia zabiegów chirurgicznych oraz szeroko dostępne protokoły badawcze. Powszechnie stosowany model ma wiele ograniczeń. Przede wszystkim, gryzonie, poprzez strukturę

mózgowia, nie stanowią optymalnego odzwierciedlenia reakcji fizjologicznej w obrazie klinicznym u ludzi. Poza tym, EAE jest śmiertelne (w odróżnieniu od MS) oraz obejmuje cały ośrodkowy układ nerwowy, w dużej mierze rdzeń kręgowy. Rozsianie zmian patologicznych po całym ośrodkowym układzie nerwowym znacząco utrudnia badania wstępne potencjalnych terapeutów. Modyfikacja procedury utworzenia EAE (podprogowa immunizacja, następnie lokalne otwarcie bariery krew-mózg) umożliwi bardziej precyzyjne badanie procesów patologicznych oraz testowanie potencjalnych terapii w modelu szczura.

Ostatecznie jednak, jesteśmy zdania, iż to właśnie świnia domowa jest optymalnym gatunkiem zwierzęcia do modelowania chorób ośrodkowego układu nerwowego poprzez podobieństwa do człowieka w budowie mózgowia i funkcjonowaniu organizmu. Ponadto, w odróżnieniu od naczelnych, prowadzenie doświadczeń na świniach stanowi mniejszy problem etyczny.

W związku z powyższym, planujemy opracować model szczura i świni wytworzenia lokalnej zmiany demielinizacyjnej o charakterze autoagresji. Następnie, w wytworzonym modelu świni zastosujemy terapię opartą o dotętnicze podanie komórek macierzystych, określając jej efektywność.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Szczur laboratoryjny (*Rattus norvegicus*) szczepu Wistar (n = 40) oraz świnia domowa (*Sus scrofa domestica*; n = 51)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych: PubMed, Google Scholar, Web of Science (JCR). Wykorzystałem słowa kluczowe: multiple sclerosis, demyelination, EAE, large animal model, neuroinflammation, cell transplantation.

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzam brak istniejącego modelu MS, który wykorzystuje duże zwierzę. Stosowane modele dotyczą najczęściej gryzoni, jednak ich rozmiary oraz niesamowite zdolności regeneracyjne w mózgowiu (nieobserwowane u ludzi) znacząco utrudniają skuteczne wnioskowanie dla potrzeb badań klinicznych. Innymi słowy, skuteczna terapia w małym mózgu mysim lub szczurzym odnosi się w nikłym stopniu do skuteczności terapii w mózgu większych ssaków, w tym ludzi. Stosowanie szczurów ogranicza w pewnym stopniu ten problem. Jednak wciąż istnieje duża rozbieżność pomiędzy wynikami badań przedklinicznych u szczurów, a klinicznych u ludzi. Na dziś, najtrafniejszym modelem MS jest gatunek małpy- marmozeta (*Callithrix jacchus*), jednak wciąż jej masa (do około 360 g) jest ograniczeniem. Poza tym, obostrzenia prawne oraz etyczne minimalizują możliwość rozpowszechnienia modelu w oparciu o ten gatunek zwierzęcia. Proponowany

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

we wniosku model lokalnej demielinizacji u szczura będzie stanowić optymalny do wstępnych badań przedklinicznych (screeningowych) przed testem u dużych zwierząt.

Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że: istnieje potrzeba opracowania modelu opartego o zapalenie mózgowia, przy jednoczesnym kontrolowaniu rozwoju zmiany patologicznej mózgu. Taki model, z wykorzystaniem świni domowej, byłby sporym uzupełnieniem luki powstałej poprzez brak modelu pośredniego- łatwego w utrzymaniu, jednak o sporym potencjale klinicznym.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli:

- Opracować model lokalnej demielinizacji o charakterze autoagresji w mózgu szczura;
- Opracować analogiczny model w świni domowej;
- Wprowadzić protokół terapii komórkowej drogą dotętniczą, z użyciem dwóch różnych populacji- obiecującej techniki lokalnej terapii schorzeń w obrębie mózgowia.

Na podstawie literatury oraz posiadanej wiedzy stwierdzam, że obecnie niewykonalne jest zastąpienie w pełni modelu zwierzęcego jakimkolwiek innym, który imitowałby wszystkie procesy fizjologiczne, będące przedmiotem naszych badań. Poza tym, techniczne aspekty zabiegów eliminują jakiekolwiek opcje operowania poza ustrojem. Liczebność grup podyktowana jest koniecznością opracowania statystycznego wyników. Dotyczy to analizy obrazu (MRI, histologia), behawioralnych, jak również molekularnych. Do tego, dotkliwość procedur określona jest jako umiarkowana. Wynika to z tego, że zarówno zabiegi dotętniczych iniekcji, jak i stereotaktycznych operacji pod kontrolą MRI były przez nas wykonywane wielokrotnie i są obarczone niewielkim ryzykiem pooperacyjnym. Ponadto, sam model choroby i wywołana patologia nie powinna stanowić ogromnego dyskomfortu dla zwierząt badawczych.

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.