

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu "Optymalizacja warunków ekspozycji na pył zawieszony (PM) w systemie firmy DSI oraz pomiaru parametrów chodu w aparacie CatWalk w modelu autoimmunologicznego zapalenia mózgu i rdzenia (EAE) u myszy"

2. Czas trwania projektu 4 tyg.

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) EAE, PM, stwardnienie rozsiane, zanieczyszczenie powietrza

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.

Autoimmunologiczne zapalenie mózgu i rdzenia (EAE) jest powszechnie stosowanym zwierzęcym modelem stwardnienia rozsianego [Procaccini et al., 2015; Lassmann & Bradl, 2017]. Kluczowym objawem jest niedowład ogona i tylnych kończyn, zaburzenia chodu, a w cięższych przypadkach również porażenia kończyn przednich aż do zejścia śmiertelnego. Do oceny nasilenia i postępu choroby najczęściej stosuje się 10-punktową skalę opisującą stopień upośledzenia ruchowego zwierzęcia [Miller et al., 2010; Bittner et al., 2014]. Jest to ocena w dużej mierze subiektywna. Zgodnie z zasadą 3R i tendencją do obiektywizacji pomiaru dąży się do stosowania automatycznych, niezależnych od obserwatora metod, dających wynik obiektywny. Celem wniosku jest zastosowanie specjalistycznej aparatury do automatycznej oceny chodu i parametrów poruszania się myszy w modelu EAE [Herold et al., 2016]. Zastosowanie tego aparatu pozwoli na precyzyjniejszą ocenę postępu choroby i nasilenia objawów, co ma kluczowe znaczenie dla dalszych badań [Herold et al., 2016; Fiander et al., 2017].

Drugim celem doświadczenia jest optymalizacja warunków ekspozycji myszy na zanieczyszczenie powietrza pyłem zawieszonym z użyciem dedykowanej aparatury. Urządzenie przeznaczone jest do rozpraszania roztworów ale można też użyć je do zawiesin, jak to będzie miało miejsce w przypadku dalszych badań. Optymalizacja będzie polegać na określeniu sposobu dawkowania zawiesiny pyłów, czasu i trybu pracy nebulizatorów i przepływu powietrza, aby w komorach powstały warunki odpowiadające warunkom atmosferycznym w okresie wysokiego zanieczyszczenia bez innych zaburzeń mikroklimatu, takich jak wzrost temperatury, wilgotności czy poziomu CO₂. Te parametry można

ustawić wyłącznie w obecności zwierząt w komorach ekspozycyjnych i przy minimalnej obsadzie.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Myszy C57BL/6J, samice

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

EAE jest powszechnie stosowanym zwierzęcym modelem stwardnienia rozsianego [Procaccini et al., 2015; Lassmann & Bradl, 2017]. Model ten w różnych wariantach, z użyciem różnych szczepów myszy i szczurów oraz różnych peptydów jest dobrze opisany w piśmiennictwie naukowym. Planowany do użycia model EAE wywołany u samic myszy szczepu C57BL/6J przez podskórne podanie peptydu MOG35-55 (Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein) wg metody opisanej przez Miller et al. [2010] oraz Bittner et al. [2014] jest najprostszy i najczęściej stosowany. Autorzy posiadają już doświadczenie w pracy z tym modelem i w związku z tym nie jest konieczne wykonywanie żadnych innych wstępnych doświadczeń i wykorzystywanie dodatkowych zwierząt. Użycie tego modelu jest więc przejawem realizacji zasady 3R. Do oceny nasilenia i postępu choroby najczęściej stosuje się 10-punktową skalę opisującą stopień upośledzenia ruchowego zwierzęcia [Miller et al., 2010; Bittner et al., 2014]. Jest to ocena w dużej mierze subiektywna. Zgodnie z zasadą 3R i tendencją do obiektywizacji pomiaru dąży się do stosowania automatycznych, niezależnych od obserwatora metod, dających wynik obiektywny. Wykorzystanie aparatury pozwoli na precyzyjniejszą ocenę postępu choroby i nasilenia objawów, co ma kluczowe znaczenie dla dalszych badań [Herold et al., 2016; Fiander et al., 2017]. Przeprowadzenie proponowanego doświadczenia pozwoli na uzyskanie danych, które w przyszłości umożliwią ulepszenie metody. Jest więc przejawem stosowania zasady 3R.

Warunki indukcji choroby o łagodnym przebiegu zostały określone w poprzednich doświadczeniach i zostaną one zastosowane w niniejszym wniosku bez wykorzystania dodatkowych zwierząt. Łagodny przebieg jest wystarczający i konieczny również w dalszych badaniach, które będą wykonywane na podstawie wyników już posiadanych i uzyskanych w niniejszym wniosku. Jest to więc przejaw stosowania zasady 3R.

W niniejszym wniosku planuje się wykorzystanie minimalnej liczby zwierząt w ogóle, a zwierząt poddanych procedurze dotkliwej w szczególności. Stąd konieczne jest użycie 6 szt. w procedurze 1. aby uzyskać 4-5 szt. myszy z EAE. Zwierzęta te będą miały różnego rodzaju i stopnia upośledzenie motoryki, dlatego konieczna jest taka liczebność grupy do poprawnego określenia ustawień aparatury i programu. Pozostałe zwierzęta również posłużą do ustawień aparatury jako kontrola z toczącym się procesem zapalnym i kontrola nietraktowana, bez żadnej interwencji. Liczebności grup po 6 szt. są podyktowane również tym, że komory do ekspozycji są przewidziane na liczebności 6-12 szt. Zapewnienie minimalnej obsady jest niezbędne do prawidłowego określenia warunków ekspozycji.

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