

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Ocena zastosowania indukowanych komórek pluripotencjalnych w leczeniu choroby Parkinsona przy wykorzystaniu nowego mysiego modelu tej choroby indukowanego syntetyczną neuromelaniną i 6-hydroksydopaminą.

2. Czas trwania projektu: 01.08.2018 – 20.02.2020

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) choroba Parkinsona, indukowane komórki pluripotencjalne, neuromelanina, mitochondria, mikrogglej

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.

Planowanym działaniem naukowym jest podanie mieszaniny dwóch rodzajów syntetycznej neuromelaniny (neuromelanina 1 i neuromelanina 2) oraz 6-hydroksydopaminy (6-OHDA) do prądkowia myszom domowym szczepu NOD-SCID. Następnie zostaną wykonane testy behawioralne w celu oceny wyindukowania choroby Parkinsona oraz pobrane zostaną mózgi w celu oceny histopatologicznej oraz molekularnej z zastosowaniem techniki real-time PCR wpływu mikrośrodowiska na zachowanie oraz motorykę myszy. Za pomocą sond molekularnych zbadany zostanie poziom ekspresji cytokin prozapalnych. Wykonane zostaną barwienia immunohistofluorescencyjne pod kątem markerów neuronów dopaminergicznych i innych komórek

znajdujących się w mikrośrodkowisku otaczającym neurony dopaminergiczne. Ponadto zostaną wykonane barwienia mitochondriów przy użyciu specyficznych barwników mitochondrialnych w celu oceny ilości mitochondriów u myszy zdrowych oraz myszy u których podjęto próbę wyindukowania choroby. Zostaną również wykonane mikrofotografie z użyciem transmisyjnego mikroskopu elektronowego (TEM) w celu oceny morfologii mitochondriów.

Choroby neurodegeneracyjne w tym choroba Parkinsona (PD) stają się coraz bardziej istotnym problemem rozwijającego się cywilizacyjnie społeczeństwa. Niemniej jednak etiologia powstawania PD wciąż nie jest poznana. W większości przypadków ma ona postać idiopatyczną i ujawnia się dopiero u osób starszych. Ponadto badania są utrudnione ze względu na brak odpowiedniego modelu zwierzęcego, który w fizjologiczny sposób naśladowałby przebieg choroby. Dlatego głównym celem niniejszego projektu jest stworzenie najbardziej optymalnego modelu do badań mechanizmów odpowiedzialnych za powstawanie i rozwój PD a także ocena potencjału terapeutycznego komórek iPS. Potencjał terapeutyczny komórek iPS zostanie zwiększony dzięki zastosowaniu immunomodulacji mikrośrodkowiska poprzez użycie dwóch rodzajów siRNA podczas podawania komórek.

W wyniku podjętych zadań badawczych spodziewamy się potwierdzenia hipotezy o roli prozapalnej syntetycznej neuromelaniny oraz otrzymania wiarygodnego, fizjologicznego modelu choroby Parkinsona, który będzie mógł zostać wykorzystany w dalszych badaniach nad potencjałem terapeutycznym indukowanych komórek pluripotencjalnych.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

310 zwierząt; mysz domowa NOD.CB17-Prkdcscid/J

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Zgodnie z najświeższymi doniesieniami literaturowymi dostępnymi w światowych bazach danych: PUBMED, Google Scholar, Science Direct stwierdzono, że zaplanowane we wniosku procedury są skonstruowane zgodnie ze standardami opisywanymi w literaturze i powszechnie stosowanymi w ośrodkach naukowych na świecie.

Zastąpienie

Aby osiągnąć zamierzony cel nie można proponowanych badań przeprowadzić przy użyciu metod alternatywnych np. tylko hodowli komórkowych lub bezkręgowców. Badania in vivo na ssakach są niezbędnym etapem określenia efektywności i skuteczności opracowywanej metody terapeutycznej przed przystąpieniem do badań klinicznych z udziałem pacjentów. Wieloczynnikowość mechanizmów regulujących procesy życiowe oraz ogromny wpływ mikrośrodowiska danego narządu na zachowanie się przeszczepionych komórek, sprawia, iż niemożliwe jest dokładne odtworzenie całego układu doświadczalnego w warunkach in vitro. Żadne, nawet najlepsze modele tkanek i organów nie zastępują warunków panujących in vivo, a takie są potrzebne do określenia potencjału terapeutycznego indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych.

Udoskonalenie

Nasze laboratorium oraz zwierzętarnia posiadają duże doświadczenie w hodowli oraz w doświadczeniach z użyciem myszy szczepu NOD-SCID, a także we wszczepianiu komórek myszom z upośledzonym układem odpornościowym. Gwarantuje to minimalizację cierpienia i stresu zwierząt nie tylko w trakcie eksperymentów ale też w codziennej hodowli. Spośród metod, które będą stosowane przy realizacji tego projektu operacje stereotaktyczne charakteryzują się znaczną inwazyjnością. Aby zwierzęta nie odczuwały bólu operacje te będą wykonywane w głębokiej narkozie oraz stosowana będzie maksymalna ilość środków przeciwbólowych.

Ograniczenie

Liczba zwierząt użytych w doświadczeniu została zminimalizowana do ilości koniecznej do uzyskania

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

wyników o odpowiedniej mocy statystycznej. Uwzględniono także grupy pilotażowe, ustalenie optymalnych parametrów doświadczenia oraz ewentualność nieplanowanego zmniejszenia grup doświadczalnych w wyniku potencjalnej śmiertelności zwierząt w trakcie doświadczenia.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na rozwój nowych strategii terapeutycznych w leczeniu chorób neurodegeneracyjnych. Projekt będzie miał duży wpływ na rozwój medycyny regeneracyjnej w Polsce i na świecie. Projekt pozwoli również na opracowanie leku na bazie komórek macierzystych, dzięki któremu będzie można regenerować również inne narządy i tkanki.

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.