

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: „**Ocena wpływu koniugatów białka prionowego na zmniejszenie zaburzeń pamięci wywołanych przez oligomery amyloidu β w zwierzęcym modelu choroby Alzheimera**”

2. Czas trwania projektu: 2 lata

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) choroba Alzheimera, model zwierzęcy, test rozpoznania obiektu, A β , koniugaty białka prionowego

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 naukowym doświadczenia jest sprawdzenie, czy koniugaty fragmentów białka prionowego z dendrymerami hamują zaburzenia pamięci wywoływane przez toksyczny amyloid β (A β) - peptyd ściśle związany z rozwojem choroby Alzheimera (AD). Pomysł poparty jest wcześniejszymi doniesieniami, iż podanie fragmentu białka prionowego (N1) hamuje zaburzenia zapamiętywania u myszy, którym wywołano objawy choroby Alzheimera poprzez podanie oligomerów peptydu A β do komory bocznej mózgu. W badaniach wykorzystane będą zidentyfikowane przez nas, znacznie krótsze fragmenty białka prionowego w postaci stabilnych biologicznie pochodnych, zdolnych do penetracji bariery krew-mózg. Eksperymenty będą polegały na podaniu do komory bocznej mózgu myszy mieszanin oligomerów A β z koniugatami fragmentów mysiego białka prionowego z

dendrymerami PAMAM ze związanym peptydem zapewniającym transport poprzez barierę krew-mózg - Angiopepem. Planowane jest również dożylne podanie koniugatów w celu zbadania najbardziej efektywnej drogi podawania tych związków. Następnie myszy zostaną poddane testom uczenia się i pamięci. Badania mają na celu sprawdzenie, czy wyżej wspomniane koniugaty hamują indukowane przez A β zaburzenia pamięci i mogą znaleźć zastosowanie w leczeniu AD.

Planowane eksperymenty będą wiązały się z ingerencją w organizm myszy. Założona kaniula w komorze bocznej mózgu myszy może początkowo powodować dyskomfort poruszania się. Z naszych obserwacji wynika, że zwierzęta szybko przyzwyczajają się do dodatkowych elementów założonych operacyjnie w obrębie głowy. Pomimo zachowania wszelkich starań, by nie zakazić ran może wystąpić stan zapalny. Wszelkie zmiany skórne lub/i wydzieliny będą konsultowane z lekarzem weterynarii IBD i odpowiednio leczone. Wypadnięcie kaniuli będzie skutkowało wcześniejszą, humanitarną eutanazją.

Podanie dokomorowe planowanych związków może wiązać się z wystąpieniem niepożądanych objawów ubocznych, typu zaburzenia równowagi. W przypadku zmian przejściowych planowana jest obserwacja, natomiast w przypadku utrzymywania się objawów wymienionych w punkcie 9 Wniosku planowana jest konsultacja z lekarzem weterynarii IBD i ewentualna wcześniejsza eutanazja.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Gatunek/Szczep: mysz C57Bl/6, 160 osobników

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: PUBMED; Google Scholar; Web of Science (JCR)

Wykorzystałam słowa kluczowe:

Alzheimer's disease, animal models, object recognition test, A β , dendrimer

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam, że:

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że: oligomery A β zaburzą zdolność zapamiętywania w modelach zwierzęcych, a wiarygodną metodą pozwalającą na obserwację tego zjawiska jest podanie do komory mózgowej

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

A β , a następnie przeprowadzenie testów rozpoznawania obiektu.

B. Brak jest danych dotyczących: możliwości wykorzystania innego (niż myszy lub szczurzy) modelu do przeprowadzenia proponowanych przez mnie badań zaburzeń poznawczych wywoływanych przez oligomery A β .

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

A. Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku ustalenia, czy koniugaty białka prionowego z dendrymerami mogą hamować zaburzenia pamięci wywoływane przez oligomery A β .

B. Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające na stworzeniu potencjalnej terapii choroby Alzheimera.

Głównym celem opisywanego projektu jest sprawdzenie, czy pochodne białka prionowego mogą być zastosowane jako lek w terapii choroby Alzheimera.

Zachowując wprowadzoną w 1959 roku, przez W. Russela i R. Burcha zasadę 3R uzasadniam podjęte we wniosku wybory dotyczące tematyki, modelu, procedur:

Refinement (udoskonalenie) - Podczas eksperymentów zwierzętom zapewniamy warunki jak najbardziej zbliżone do naturalnych aby efektywnie zmniejszyć odczucie stresu. Myszy przebywają w cichych pokojach z ograniczonym dostępem dla personelu. Klatki zapewniają stały dostęp do pożywienia i wody, zaopatrzone są w domki oraz suchą ściółkę regularnie zmienianą. Przed wykonywaniem operacji lub podania badanych związków, zwierzęta są poddane znieczuleniu ogólnemu. Do anestezji stosowana jest mieszanka ketamina-medetomidyna. Po uśpieniu podskórnie podawany jest lek przeciwbólowy (butamidor) oraz antybiotyk i lek przeciwpalny (tolfedine, baytril). Dodatkowo w trakcie i po operacji na ranę podawana jest lidokaina (środek miejscowo znieczulający). Do wybudzania zwierząt z narkozy stosowany jest revertor (środek znoszący działanie uspokajające medetomidyny). W celu minimalizacji liczby zgonów z powodu wychłodzenia, w trakcie trwania zabiegu i po jego zakończeniu, zwierzęta są przetrzymywane na płytce grzejnej do całkowitego wybudzenia. Następnie są odkładane do klatek domowych o wzbogaconym środowisku umożliwiającym budowę gniazda i zabawę (chusteczki, drewniane belki, hamaki, rolki od papieru). Zwierzęta przetrzymywane są w przezroczystych klatkach, umożliwiających kontakt wzrokowy z innymi osobnikami.

Replacement (zastąpienie) – W celu uzyskania rzetelnych wyników niezbędne jest przeprowadzenie eksperymentu in vivo, ponieważ badania na hodowlach in vitro nie są w stanie odzwierciedlić wszystkich czynników występujących w żywym organizmie. Model zwierzęcy jest niezbędny do zaobserwowania zmian behawioralnych po przeprowadzonych modyfikacjach np. zdolności poznawczych.

Reduction (ograniczenie) – Do eksperymentu zostanie wykorzystana minimalna liczba zwierząt niezbędna do uzyskania wiarygodnych wyników. Po zakończeniu doświadczenia zwierzęta zostaną poddane humanitarnej procedurze eutanazji redukującej stres i uczucie bólu.