

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

Tytuł projektu: Zastosowanie progenitorów glejowych w leczeniu stwardnienia zanikowego bocznego  
(Kontynuacja)

1.Czas trwania projektu: **3 marca 2017 - 31 sierpnia 2018**

2.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): ALS, progenitory glejowe, terapia chorób neurodegeneracyjnych, komórki macierzyste

3.Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) **Badania translacyjne lub stosowane, zaburzenia układu nerwowego i zaburzenia psychiczne u człowieka**

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.

Stwardnienie zanikowe boczne (SLA/ALS) jest śmiertelną chorobą neurodegeneracyjną bez dostępnego skutecznego leczenia. Większość pacjentów umiera w przeciągu 2-5 lat od postawienia diagnozy. Wielkie nadzieje są związane z zastosowaniem nowoczesnych metod medycyny regeneracyjnej. Najnowsze badania wskazują na znaczącą rolę komórek glejowych w prawidłowej funkcji neuronów ruchowych. Zaburzenia funkcji gleju prowadzą do degeneracji neuronów ruchowych. W ostatnich latach opracowano techniki izolacji prekursorów glejowych wykazując ich doskonałe właściwości terapeutyczne. Komórki te po przeszczepie do mysich modeli chorób neurologicznych efektywnie zasiedlają ośrodkowy układ nerwowy (OUN), różnicują się do dojrzałych komórek glejowych i

prowadzą do znacznego efektu terapeutycznego.

W tym projekcie proponujemy zastosowanie pierwotnych komórek glejowych do leczenia SLA/ALS. Przydatność terapeutyczna komórek podanych domózgowo w soli fizjologicznej będzie oceniana w modelu mysim (Shiverer i SOD1 G93A). Eksperyment będzie przeprowadzony na oseskach myszy transgenicznym *rag2-/-shiverer* i *rag2-/-SOD1G93A*. Wszystkie zwierzęta, poddane badaniu w rezonansie magnetycznym poddane będą anestezji.

W doświadczeniu zastosujemy procedury przeszczepu komórek zawieszonych w soli fizjologicznej do przestrzeni płynowej *komór bocznych mózgu*. Analiza efektu terapeutycznego będzie oceniana z użyciem obrazowania z udziałem rezonansu magnetycznego (MRI). W przypadku myszy *rag2-/-SOD1 G93A* dodatkowo przeprowadzana będzie ocena przeżywalności oraz siły uchwytu kończyn przednich i tylnych oraz testy behawioralne mające na celu ocenę efektów terapii. W kolejnym etapie badań pobrane zostaną mózgi i rdzenie kręgowo od zwierząt, które zostaną wcześniej poddane anestezji i eutanazji w celu analizy efektów działania terapii w mikroskopie konfokalnym i elektronowym. Odrębnym etapem będzie śledzenie losu przeszczepionych komórek z użyciem technik mikroskopii konfokalnej.

## 6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

112 osesków myszy transgenicznym linii *rag2-/-shiverer*

112 osesków myszy transgenicznym linii *rag2-/-SOD1 G93A*

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA<sup>1</sup>

Po przeszukaniu baz danych dotyczących metod alternatywnych ograniczających liczbę zwierząt bądź całkowicie je wykluczających, wobec braku odpowiednich modeli nie-zwierzęcych postanowiono zrealizować plan badawczy z wykorzystaniem najmniejszej z możliwych liczby zwierząt, która zapewni osiągnięcie celu badawczego i statystycznego, ze szczególną dbałością o stosowanie zasad 3R.

<sup>1</sup> Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

Przygotowując projekt badawczy sprawdzono stan istniejącej wiedzy w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych: EBSCO i PUBMED wykorzystując słowa kluczowe: glial progenitors, stem cell therapy, intracerebral transplantation, neurodegenerative disease, ALS.

Na podstawie istniejącej literatury stwierdzono, że większość pacjentów z ALS umiera w ciągu 2 – 5 lat od postawienia diagnozy. Jak dotąd nie znaleziono skutecznej terapii umożliwiającej wyleczenie lub choćby opóźnienie postępu choroby. Duże nadzieje wiąże się z medycyną regeneracyjną, a w szczególności z terapią komórkami macierzystymi. Kluczowym elementem w terapii ALS wydają się być komórki glejowe odpowiedzialne za utrzymanie homeostazy, jak również prawidłową funkcję neuronów ruchowych. Najlepsze właściwości terapeutyczne posiadają prekursorzy otrzymane z tkanki płodowej. Najnowsze badania pokazują, że w przypadku chorób neurodegeneracyjnych to właśnie progenitory glejowe mają zdolność zasiedlania oraz różnicowania w komórki gleju przyczyniając się do efektu terapeutycznego.

Jednym z problemów w terapiach z udziałem komórek macierzystych w ALS jest ich dystrybucja. Jedną z potencjalnych dróg mogących zapewnić sprawną dystrybucję transplantowanych komórek jest ich podanie do komór boczných mózgu, stosując tę drogę podania możliwe będzie zastąpienie źle funkcjonalnego gleju zdrową populacją komórek. Zastosowanie proponowanych mysich modeli umożliwi oraz ocenę efektów terapii za pomocą techniki obrazowania z udziałem rezonansu magnetycznego (MRI). W stosowanych dotychczas układach progenitory glejowe wykazywały zdolność do intensywnej migracji i mielinizacji. Dotychczasowe wstępne rezultaty badań i brak odpowiednich informacji w dostępnych bazach danych uzasadniają podjęcie badań na oseskach mysich, będących modelami ALS lub chorób demielinizacyjnych.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na pełną ocenę efektu terapeutycznego progenitorów glejowych w ALS. Wyniki naszych badań będą wykorzystane w opracowaniu efektywnej terapii regeneracyjnej w chorobach neurodegeneracyjnych i demielinizacyjnych, w tym ALS.

W doświadczeniu zaplanowano wykorzystanie minimalnej liczby zwierząt, która zapewni osiągnięcie celu badawczego i statystycznego. Zwierzęta w czasie eksperymentu będą przebywały w otoczeniu, które zminimalizuje stres. Stosowane będą środki farmakologiczne ograniczające ból, cierpienie i dystres. Każda procedura zostanie zakończona humanitarnym uśmierceniem zwierzęcia.