

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu:

OPTYMALIZACJA MODELU MYSIEGO ZWŁÓKNIENIA WĄTROBY
WYWOŁANEGO TETRACHLOROMETANEM ORAZ WYBÓR ZWIĄZKU
REFERENCYJNEGO

2. Czas trwania projektu:

23 miesiące (4 luty 2019 – 31 grudzień 2020)

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów):

Chitotriozydaza, CHIT1, Włóknienie wątroby, Model myszy CCl₄,

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych):

B. Badania translacyjne lub stosowane – choroby układu trawiennego u ludzi

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.

Nieodzownym elementem procesu weryfikacji działania nowych terapii są modele zwierzęce. Celem opisanych doświadczeń jest uzyskanie zwierzęcego modelu zwłóknienia wątroby

wywołanego dootrzewnowym podaniem tetrachlorometanu (CCl₄). Pomimo tego, że model ten został dobrze opisany w literaturze naukowej, niezbędne jest jego zweryfikowanie w danym środowisku ze względu na istotny wpływ czynników takich jak środowisko zwierzętarni, dieta, pora roku oraz cyklu dzień/noc na powtarzalność modelu. Model ten będzie wykorzystywany w przyszłości do badań nowych inhibitorów chitotriozydazy (CHIT1) w terapiach chorób wątroby u ludzi. W pierwszej kolejności ustalona zostanie dawka CCl₄ – podana dootrzewnowo – oraz czas rozwoju włóknienia po jej podaniu. Następnie w wybranych warunkach z pierwszego doświadczenia (na podstawie analizy zmian w ekspresji oraz aktywności enzymatycznej CHIT1) sprawdzone zostanie działanie 3 związków referencyjnych, testowanych w obecnej chwili w badaniach klinicznych (pod kątem skuteczności w leczeniu chorób zwłóknieniowych wątroby). Ze względu na całkowicie odmienny sposób ich działania, wybrany związek stanie się związkiem odniesienia dla przyszłych badań z użyciem inhibitorów CHIT1. Ze względu na możliwość oceny działania CCl₄ oraz związku referencyjnego jedynie w izolowanej wątrobie, konieczne jest przeprowadzenie badań wstępnych, gdyż nie wiadomo jak w warunkach tutejszej zwierzętarni rozwinie się włóknienie u zwierząt. Doświadczenie będzie miało zatem charakter pilotażowy.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W badaniach zaplanowano wykorzystanie 264 myszy szczepu BALB/c.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

Podczas przygotowywania tego projektu badawczego, sprawdzono istniejącą wiedzę w powiązanej tematyce w bazach danych (PUBMED, Google Scholar), w celu sprawdzenia istniejącej wiedzy w powiązanej tematyce.

Użyto następujących słów kluczowych: Chronic liver disease; CCl₄ induced liver fibrosis; Liver fibrosis therapy; Chitinases in liver disease; Chitinases in fibrosis; Animal models of liver diseases.

Włóknienie wątroby jest jednym z etapów gojenia się uszkodzonej tkanki, do którego dochodzi w wyniku różnych procesów chorobowych. Włóknienie charakteryzuje się nadmierną produkcją i odkładaniem komponentów macierzy pozakomórkowej (extracellular matrix, ECM), a szczególnie kolagenu. Czynniki, które powodują uszkodzenie hepatocytów, prowadzą do aktywacji komórek Kupffera, które z kolei wydzielają szereg czynników, odpowiedzialnych za aktywację komórek gwiaździstych (hepatic stellate cells, HSC), a co za tym idzie, zwiększoną produkcję ECM. Nielezione włóknienie wątroby prowadzi do marskości wątroby, a także do raka wątrobowokomórkowego (hepatocellular carcinoma, HCC). Szacuje się, że śmiertelność spowodowana marskością wątroby oraz HCC, które rozwinęły się w wyniku zwłóknienia wynosi około 1,5 miliona przypadków na świecie w skali roku.

Obecnie nie istnieje żadna terapia, która byłaby w stanie spowolnić lub odwrócić rozwój zwłóknienia wątroby u ludzi, dlatego poszukiwanie nowych leków oraz celów terapeutycznych jest niezwykle ważne. Literatura naukowa wskazuje na zwiększenie aktywności chitynolitycznej u pacjentów ze zwłóknieniem wątroby. Porównanie aktywności chitynolitycznej w komórkach Kupffera pobranych od pacjentów cierpiących na niealkoholowe stłuszczeniowe zapalenie wątroby (nonalcoholic steatohepatitis, NASH) oraz od zdrowych pacjentów wskazuje na znaczne zwiększenie ekspresji genu CHIT1 u pacjentów z NASH. Co więcej, zwiększona ekspresja CHIT1 pozytywnie koreluje ze wzrostem ekspresji α -SMA oraz TNF- α , które są odpowiedzialne za aktywację komórek gwiaździstych. Co więcej, wzrost aktywności chitynolitycznej jest obserwowany u pacjentów z idiopatycznym zwłóknieniem płuc, a także w modelach zwierzęcych zwłóknienia płuc. Dane te sugerują, że zwiększona produkcja CHIT1 może odgrywać ważną rolę w rozwoju chorób zwłóknieniowych, a w tym zwłóknienia wątroby, co daje olbrzymi potencjał terapeutyczny dla niskocząsteczkowych inhibitorów chitynaz.

Uzyskane dane z proponowanego projektu będą wykorzystane w przyszłych badaniach – w testowaniu nowych inhibitorów chitynaz jako potencjalnych leków w terapii zwłóknienia wątroby u ludzi.

Zaplanowane doświadczenia będą służyły do optymalizacji zwierzęcego modelu zwłóknienia wątroby wywołanego CCl₄ pod kątem badania aktywności CHIT1 oraz do wyboru najlepszego związku referencyjnego, który będzie użyty podczas testowania niskocząsteczkowych inhibitorów chitynaz, które celują w nowe, wcześniej niezbadane mechanizmy choroby. Metody badań in vitro wykazują szereg ograniczeń, które powodują, że wyniki często nie odpowiadają zjawiskom obserwowanym w warunkach in vivo. Głównym ograniczeniem metod in vitro jest brak możliwości oszacowania wpływu układu odpornościowego na wszystkie aspekty rozwoju, przebiegu, a także regresji choroby. Dlatego też, użycie modelu zwierzęcego jest niezbędne do osiągnięcia postawionego celu.

Zasada ograniczenia

Planowane badania, mimo swojego pilotażowego charakteru, uwzględniają ich wykonanie przy użyciu możliwie najmniejszej liczby zwierząt w poszczególnych grupach. Przewidziana liczba zwierząt we właściwym doświadczeniu jest niezbędna do osiągnięcia wystarczającej siły statystycznej oraz do przeprowadzenia prawidłowej analizy statystycznej otrzymanych wyników. Ponieważ oceny skuteczności indukcji włóknienia wątroby można dokonać jedynie post mortem, mniejsza liczba zwierząt mogłaby nie wykazać statystycznej znamienności i ponowne próby doświadczenia wymagałyby niepotrzebnego zaangażowania jeszcze większej liczby zwierząt.

Zasada udoskonalenia

Wszystkie procedury opisane we wniosku zostały zaplanowane tak, aby ograniczyć do minimum stres oraz dyskomfort zwierząt użytych w doświadczeniu. Wszystkie doświadczenia wykonywane będą przez odpowiednio przeszkolony personel, posiadający odpowiednie umiejętności w tym zakresie. Co więcej, potencjalne związki referencyjne wybrane zostały na podstawie ekstensywnego przeszukania literatury naukowej i danych o braku dodatkowej

toksyczności u myszy, a sam model, w swojej pierwotnej postaci jest powszechnie używany w badaniach nad zwłóknieniem wątroby, nie powodującym nadmiernego bólu i dyskomfortu.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną¹

TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy

TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy

☒ NIE

¹ Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.