

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: **Wpływ siarkowodoru (H_2S) wytwarzanego w mitochondriach na mechanizmy związane z przeprogramowaniem makrofagów – rola w miażdżycy i niealkoholowym stłuszczeniu wątroby**

2. Czas trwania projektu: 18 miesięcy

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): **polaryzacja makrofagów, siarkowodór, mitochondria, miażdżyca, niealkoholowe stłuszczenie wątroby**

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.

Przewlekłe choroby zapalne, do których zaliczamy m.in. miażdżycę i niealkoholowe stłuszczenie wątroby, są obecnie ogólnoswiatowym problemem zdrowotnym i jedną z częstych przyczyn śmierci w krajach zachodnich. W rozwoju przewlekłego zapalenia w miażdżycy i niealkoholowym stłuszczeniu wątroby biorą udział komórki układu odpornościowego: wywodzące się z monocytów makrofagi. Wyróżniamy dwa główne fenotypy makrofagów: „prozapalne” M1, odpowiedzialne za usuwanie patogenów oraz „przeciwzapalne” M2, zaangażowane w proces ustępowania zapalenia. Fenotypy te wykazują odmienny metabolizm w mitochondriach. Ostatnie badania pokazują, że manipulowanie mitochondrialnym metabolizmem makrofagów, może spowodować przeprogramowanie fenotypu

makrofagów z M1 na M2 i tym samym stanowić nowe podejście terapeutyczne w leczeniu przewlekłych chorób zapalnych.

Siarkowodór (H_2S) jest małą, gazową cząsteczką sygnalizacyjną, która w wysokich stężeniach jest toksyczna, natomiast w niskich stężeniach może wspomagać bioenergetykę komórki. Celem niniejszego projektu jest kompleksowa ocena wpływu mitochondrialnego donora H_2S – związku AP39 na mechanizmy związane z przeprogramowaniem makrofagów w przewlekłych chorobach zapalnych: miażdżycy i niealkoholowym stłuszczeniu wątroby.

Prowadzone badania mogą rzucić nowe światło na rolę H_2S i mitochondrialnego metabolizmu w procesie zmiany fenotypu makrofagów, a także poszerzyć wiedzę na temat patogenezы miażdżycy i niealkoholowego stłuszczenia wątroby. Ponadto uzyskane wyniki mogą przyczynić się do opracowania nowego podejścia farmakologicznego w leczeniu przewlekłych chorób zapalnych.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniu zostaną wykorzystane samice: myszy domowych apoE-knockout (24 sztuki) oraz C57BL/6J (48 sztuk) w wieku 8 tyg.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Myszy apoE-knockout są uznanym modelem eksperymentalnym miażdżycy i jej powikłań narządowych (m.in. stłuszczenie wątroby, uszkodzenie nerek, zmiany neurodegeneracyjne), nadającym się do wielowątkowego i wielopoziomowego badania skomplikowanych, wzajemnie przeplatających się patomechanizmów aterogenezy. Natomiast myszy C57BL/6J na diecie wysokotłuszczowej są znanym i szeroko stosowanym modelem stłuszczenia wątroby. Myszy apoE-knockout wykazują powtarzalne tempo progresji miażdżycy, o zmianach naczyniowych morfologicznie odpowiadających tym obserwowanym u ludzi. Wykorzystanie innego modelu zwierzęcego (np. królików karmionych dietą wysokocholesterolową) nie pozwala na tak precyzyjną kontrolę stadium rozwoju miażdżycy w grupie eksperymentalnej, jak to ma miejsce w przypadku myszy apoE-knockout. Wymusza to uwzględnienie

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

znacznie większej liczby zwierząt dla uzyskania rozrzutu zmiennych opisujących stopień rozwiniętych zmian miażdżycowych (powierzchnia) na poziomie pozwalającym na statystyczną weryfikację uzyskiwanych wyników. W związku z tym, że miażdżyca i stłuszczenie wątroby są chorobami o skomplikowanej i wielonarządowej patogenezie, nie jest możliwe zastosowanie metod alternatywnych zapewniających osiągnięcie założonego celu, bez wykorzystania zwierząt.

Liczba zwierząt została wyznaczona w oparciu o analizę liczebności grup eksperymentalnych i ograniczona do niezbędnego minimum dającego wiarygodne i statystycznie istotne wyniki. Założenie zostały wykonane w oparciu o wieloletnie doświadczenie zespołu w badaniach z wykorzystaniem modelu apoE-knockout oraz modelu stłuszczenia wątroby (myszy C57BL/6J na diecie wysokotłuszczowej).

Myszy apoE-knockout oraz myszy C57BL/6J będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku, z uwzględnieniem wzbogacenia środowiska bytowania. Czynności w procedurze eksperymentalnej zostały zaplanowane tak, aby ograniczały do minimum oraz eliminowały ból, cierpienie i dystres zwierząt. Została uwzględniona możliwie najmniejsza dotkliwość i częstotliwość czynności wykonywanych na zwierzętach (podaż leku w umiarkowanej kategorii dotkliwości). Kwerenda dostępnej literatury wykazała, iż podanie mitochondrialnego donora H₂S - związku AP39 myszom apoE-knockout oraz myszom C57BL/6J nie spowoduje ostrych organicznych jak i behawioralnych zaburzeń u zwierząt. Ostatnią czynnością planowanej procedury jest uśmiercenie i pobranie wszystkich narządów dla przeprowadzenia oceny blaszki miażdżycowej oraz rozwoju stłuszczenia wątroby.

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.