

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: „Rola enzymów odpowiedzialnych za tworzenie siarkowodoru w etiopatogenezie ostrego oraz przewlekłego zapalenia trzustki wywołowanego u szczurów.”
2. Czas trwania projektu 1.10.2018-31.12.2019 rok
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) siarkowodór, ostre zapalenie trzustki, przewlekłe zapalenie trzustki
4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): A. badania podstawowe

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.

Badanie te pozwolą ocenić poziom siarkowodoru (H_2S) – jednego z trzech gazowych transmiterów, aktywność i ekspresji enzymów uczestniczących w jego tworzeniu i metabolizmie w przebiegu ostrego i przewlekłego zapalenia trzustki. Liczne badania udowodniły udział H_2S w takich procesach jak ochrona komórek, zapalenie, włóknienie czy nowotworzenie. Istnieją istotne przesłanki o możliwej roli H_2S w patogenezie zapaleń trzustki, w których dominują procesy zapalne, martwiczne i włóknienie. Wyniki aktualnych badań naukowych, które posiadamy na ten temat są jednak ze sobą sprzeczne i niepełne.

Zapalenie trzustki jest istotnym problemem zarówno pod względem klinicznym jak i epidemiologiczny. Na świecie na ostre zapalenie trzustki (OZT) rocznie choruje od 13 do 45 na 100 000

osób. Zachorowalność na przewlekłe zapalenie trzustki (PZT) jest mniejsza - około 5 do 12 osób na 100 000, jednak w przypadku PZT dodatkowym niekorzystnym czynnikiem jest możliwy rozwój nowotworów trzustki, na które choruje około 8 na 100 000 osób. Przeprowadzone eksperymenty pomogą ocenić metabolizm siarkowodoru i innych związków siarki w tkankach prawidłowych trzustki oraz w jej zapaleniu.

Zaplanowane badania zostaną przeprowadzone na szczurach Wistar Kyoto (WKY) z uwzględnieniem modelu ostrego zapalenia trzustki indukowane poprzez podwiązanie przewodu żółciowo-trzustkowego (BPDO), modelu przewlekłego zapalenia trzustki indukowanego dichlorkiem dibutylocyny. Częstym objawem ostrego zapalenia trzustki jest silny ból trzewny, który w przeprowadzonych eksperymentach będzie leczony silnymi lekami przeciwbólowymi. Zwierzęta po wykonanych zabiegach będą pod stałą opieką weterynaryjną

Uzyskane wyniki mogą być użyteczne w opracowaniu nowych markerów diagnostycznych zapaleń trzustki oraz mogą posłużyć stworzeniu nowych procedur terapeutycznych opartych lekach uwalniające H₂S lub diecie o różnej zawartości związków siarki.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

55 samców szczura wędrownego, szczep Wistar Kyoto (WKY)

. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy sprawdzono istniejącą wiedzę na temat roli siarkowodoru oraz jego metabolizmu w patogenezie ostrego i przewlekłego zapalenia trzustki: Google Scholar, PUBMED, Web of Science

Przy użyciu następujących słów kluczowych:

hydrogen sulfide, hydrogen sulfide metabolism, CTH, CBS, MPST, TST, GSH, GSSG, CSH, CSSC, acute pancreatitis, chronic pancreatitis, pancreatic fibrosis

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie,

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzono, że w zapaleniach trzustki obserwowano zmiany stężenia siarkowodoru we krwi w badaniach doświadczalnych. W przeważającej części odnotowywano wzrost stężenia H₂S we krwi, natomiast pojedyncze badania donoszą o mniejszym jego stężeniu.

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

Również wyniki dotyczące udział siarkowodoru w patogenezie zapleń trzustki są sprzeczne. W części eksperymentów wykazano protekcyjne działania H₂S, w tym szczególnie przeciwzapalne działanie siarkowodoru w ostrym zapaleniu trzustki. Z drugiej strony w innych badaniach zaobserwowano nasilenie zmian patologicznych w trzustce objętej zapaleniem w tym jego działanie prozapalne oraz nasilające martwicę.

B. Brak jest jednoznacznych danych dotyczących stężenia siarkowodoru oraz jego udziału w patogenezie ostrego (OZT) jak i przewlekłego zapalenia trzustki (PZT). Istotnym jest zatem przeprowadzenie szczegółowych badań metabolizmu siarkowodoru i siarki w opisywanych chorobach.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

A. Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy w kierunku

Uzyskane wyniki pozwolą odpowiedzieć na pytanie o rolę siarkowodoru, jego metabolizmu oraz innych związków siarki w patogenezie ostrego i przewlekłego zapalenia trzustki. Dodatkowo opisane eksperymenty są wstępem do dalszych badań nad rolą siarkowodoru i związków siarki w nowotworach trzustki, w tym raku tego narządu, które są najpoważniejszym powikłaniem zapaleń trzustki.

B. Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegającej na

- ocenie przydatności siarkowodoru i jego metabolizmu jako markerów stanu uszkodzenia i zapalenia w ostrym oraz przewlekłym zapaleniu trzustki
- potencjalnym zastosowaniu zdobytej wiedzy w opracowaniu nowych procedur terapeutycznych w tym: zastosowanie donorów siarkowodoru lub modyfikacji w diecie ilości aminokwasów siarkowych

Zastąpienie:

Ponieważ planowane badania mają na celu poszerzenie aktualnej wiedzy na temat roli enzymów w procesie syntezy siarkowodoru w stanie zapalnym trzustki oraz w przyszłości wykorzystanie zgromadzonych informacji do doświadczeń na ludzkich nowotworach trzustki istotne stało się przeprowadzenie wstępnych badań na modelu zwierzęcym, który pozwoli na odwzorowanie warunków adekwatnych do panujących w organizmie ludzkim. Należy podkreślić złożoność badanych chorób, które uwzględniają procesy zmian wstecznych w tym martwicę, zwyrodnienia oraz apoptozę, zapalenie oraz włóknienie. Złożoność procesu patogenetycznego uniemożliwia zastosowanie na tym etapie linii komórkowych lub tkankowych oraz innych metod modelowania in vitro. Metody alternatywne nie zapewniają optymalnych warunków do przeprowadzenia eksperymentu i określenia wpływu różnych czynników na stan zapalny, włóknienie czy zmiany wsteczne w miększu trzustki. Szczurzy model ostrego i przewlekłego zapalenia trzustki wydaje się być odpowiednim modelem do badań pomimo pewnych różnic anatomicznych w budowie trzustki. Problemem jest również fakt, że nowe metody terapii również nie mogą być oceniane w ramach testów klinicznych zanim wcześniej nie stwierdzi się braku przeciwwskazań w badaniach przeprowadzonych na zwierzętach. Dlatego wybrane szczurze modele są najbardziej użytecznym narzędziem do przeprowadzenia opisanego eksperymentu

badawczego, pozwalającym również na zdobycie ważnych informacji dotyczących patogenezы OZT i PZT oraz wdrożenia eksperymentalnej terapii. Zespół badawczy ma doświadczenie w pracy z gryzoniami laboratoryjnymi co gwarantuje zarówno bezpieczeństwo dla zwierząt zarówno w zakresie anestezji jak i samego zabiegu oraz pooperacyjnej analgezji.

Ograniczenie:

Oszacowana liczba zwierząt w grupie będzie wynosiła 11 osobników. Należy podkreślić, że wykonywane zabiegi i procedur stwarzają ryzyko zgonu zwierzęcia, dlatego większe ograniczenie wielkości grup może skutkować w przypadku upadku pojedynczych zwierząt utratą istotności statystycznej w opisanych badaniach, a tym samym nieważność uzyskanych wyników.

Udoskonalenie:

Zespół badawczy ma duże doświadczenie w pracy ze szczurem wędrownym w zakresie chirurgii naczyniowej co gwarantuje zarówno bezpieczeństwo dla zwierząt w zakresie anestezji jak i samego zabiegu. Środowisko bytowania zwierząt wzbogacone będzie o drewniane gryzaki osikowe oraz rurki tekturowe.

W celu ograniczenia stresu i cierpienia zwierząt w opisanej procedurze zastosowano protokół badania zakładający przeprowadzenie wszystkich doświadczeń w znieczuleniu ogólnym. Dodatkowo, wszystkie procedury zakończą się eutanazją zwierząt. Zwierzęta w czasie zabiegów będą poddane znieczuleniu ogólnemu z zastosowaniem analgezji okołoperacyjnej z zastosowaniem ksylazyny, ketaminy oraz tramadolu.

Po zabiegach i procedurach zwierzęta będą pod stałą opieką pracowników zwierzętarni i eksperymentatorów, którzy będą monitorować ich stan zdrowia oraz warunki dobrostanu, ze szczególnym uwzględnieniem diagnostyki bólu.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- ☐ NIE