

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Pochodzenie fibroblastów w pozapalnym zwłóknieniu mięśnia sercowego w modelu EAM

2. Czas trwania projektu 20.07.2017 – 31.12.2020

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) zapalenie mięśnia sercowego, zwłóknienie, fibroblasty, systemy reporterowe

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.

Zapalenie mięśnia sercowego jest najczęstszą przyczyną zwłóknienia w sercu czyli nadmiernego nagromadzenia komórek takich jak fibroblasty i miofibroblasty. W dłuższym okresie czasu zwłóknienie prowadzi do niewydolności serca. Celem tego projektu jest zidentyfikowanie źródła komórkowego fibroblastów i miofibroblastów oraz badanie roli wybranych ścieżek sygnałowych w pozapalnym zwłóknieniu mięśnia sercowego w modelu eksperymentalnym autoimmunologicznego zapalenia mięśnia sercowego. Model ten polega na immunizacji myszy (poprzez podskórną iniekcję, która wywołuje reakcję immunologiczną) peptydem specyficznym dla mięśnia sercowego skutkującym zapaleniem mięśnia sercowego, a po ustąpieniu ostrej fazy zapalenia prowadzącym do postępującego zwłóknienia – podobnie jak w rozwoju choroby u ludzi. Niektóre zwierzęta wykazują osłabioną funkcjonalność serca w końcowej fazie choroby (jednakże nie skutkują śmiercią zwierzęcia, ani nawet znaczącym obniżeniem aktywności). Osiągnięcie założonego celu będzie możliwe dzięki użyciu specjalnych transgenicznych myszy, tzw. myszy reporterowych oraz nokautów genowych. Efekty badania mają na celu między innymi przyczynić się do określenia celów komórkowych oraz molekularnych dla nowych terapii ukierunkowanych na leczenie kardiomiopatii zapalnej. Zrozumienie mechanizmów patofizjologicznych oraz wytypowanie właściwych celów jest niezbędne do opracowania skutecznych terapii chroniących przed konsekwencjami zapalenia mięśnia sercowego czyli pozapalnym zwłóknieniem, które u ludzi prowadzi do przedwczesnej śmierci.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W badaniach zostaną użyte następujące myszy na tle genetycznym BALB/c:

1) Coll-GFP x aSMA-RFP (n=40), 2) LysM-Cre x YFP-fl/fl (n=40), 3) Cdh-Cre x YFP-fl/fl (n=40), 4) YFP-fl/fl (n=40), 5) BALB/c (dzikie) (n=130), 6) Coll-GFP x aSMA-RFP x LysM-Cre x YFP-fl/fl (n=40), 7) Coll-GFP x aSMA-RFP x Cdh-Cre x YFP-fl/fl (n=40), 8) ATR1-/- (n=30), 9) Rock1+/- (n=30), 10) LysM-Cre x Tgfb2-fl/fl (n=30)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

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

Wykorzystałam/em słowa kluczowe:

Experimental autoimmune myocarditis/ fibroblast origin/ cell fate/ myofibroblasts/cardiac remodelling
cell tracking/reporter mice/ angiotensin II receptor type I/Rho kinase I/Transforming growth factor receptor type 2

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzam, że:

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że: istnieją różne hipotezy (także wzajemnie się wykluczające) na temat pochodzenia fibroblastów i miofibroblastów w pozapalnym zwłóknieniu w mięśniu sercowym.

B. Brak jest danych które jednoznacznie pozwoliłyby wskazać źródło tych komórek ze względu na dotychczasową niedostępność odpowiednich narzędzi metodologicznych (myszy reporterowych na tle genetycznym umożliwiającym wywołanie zapalenia mięśnia sercowego).

C. Dotychczasowe wyniki wskazują, że TGF- β jest prawdopodobnie kluczowym czynnikiem aktywującym pośrednio liczne ścieżki sygnałowe (takie jak Wnt-, Rho kinazo-, angiotensyna II-, interleukina 1 receptor-zależne i inne). Jednakże rola ATR1, ROCK1 oraz TGF β R2 w komórkach zapalnych pozostaje nieznana.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na: jednoznaczne odpowiedzenie na pytanie o pochodzenie fibroblastów i miofibroblastów w pozapalnym zwłóknieniu w mięśniu sercowym. Zaproponowane systemy Cre-loxP są obecnie najbardziej metodologicznie zaawansowanym systemem to tego typu badań, które nie zakłócają w istotny sposób patofizjologii rozwoju choroby. W naszej opinii przeprowadzenie tego typu eksperymentów i opublikowanie danych pozwoli na ucięcie spekulacji oraz pozwoli w przyszłości uniknąć badań nie mających związku z patofizjologią procesów pozapalnego zwłóknienia mięśnia sercowego. Uzyskane dane pozwolą także na zrozumienie mechanizmów molekularnych w patologicznym zwłóknieniu mięśnia sercowego, co niewątpliwie przyczyni się do stworzenia nowatorskich metod zapobiegających rozwojowi chorób serca.

Zastąpienie: Użycie mysiego modelu zwierzęcego jest konieczne ponieważ nie istnieją alternatywne modele (np. *in vitro*, czy *in silico*, lub modele oparte o zwierzęta będące na niższym stopniu rozwoju ewolucyjnego) pozwalające uzyskać odpowiedź na zadane pytania badawcze. W naszej opinii potencjalne korzyści naukowe i społeczne wynikające z proponowanych badań w pełni uzasadniają wykorzystanie w nich zwierząt doświadczalnych.

Ograniczenie: Proponowana liczba zwierząt jest minimalną liczbą przy której jesteśmy w stanie w sposób wiarygodny odpowiedzieć na zadane pytania badawcze.

Udoskonalenie: Użycie modelu EAM pozwala na *zastąpienie* indukcji zapalenia mięśnia sercowego przy użyciu wirusów kardiotropowych, które powodują znacznie dotkliwszy przebieg choroby i które są patogenne także dla człowieka.

Ponadto, użycie systemów Cre-loxP pozwala na *zastąpienie* modelu transplantacji szpiku kostnego, który wiąże się z dużym stresem dla zwierzęcia oraz ryzykiem śmierci w przypadku niewłaściwego postępowania.

Użycie myszy na tle genetycznym BALB/c pozwala na *ograniczenie* dotkliwości ze względu na rozwój

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

umiarkowanej formy choroby.