

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu:

*Kluczowa rola oddziaływań pomiędzy inflammasomem Nlrp3 a układem renina-angiotensyna- aldosteron w patogenezie SARS-CoV- 2 z perspektywy przedziału komórek macierzystych*

2. Czas trwania projektu: **2 lata**

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): koronawirus COVID19, Układ renina–angiotensyna–aldosteron, inflammasom Nlrp3, pneumocyty II-rzędu, oskrzelowo-pęcherzykowe komórki macierzyste

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.

Pomimo globalnej pandemii i wzrostu potwierdzonych infekcji, stan wiedzy na temat patogenyzy zakażenia wirusem SARS-CoV-2 jest niewystarczający, a odległe skutki infekcji na dzień dzisiejszy są nie do oszacowania.

Planowane doświadczenia pozwolą odpowiedzieć na pytanie czy stan zapalny organizmu, wywołany nieprawidłowym funkcjonowaniem układu odpornościowego oraz układ renina-angiotensyna-aldosterona mają wpływ na zakażenia koronawirusem (COVID19). Przeprowadzone badania wzbogacą dotychczasową wiedzę naukową oraz w przyszłości mogą pomóc w opracowaniu skutecznych terapii.

Doświadczenia zostaną przeprowadzone na myszach transgenicznym oraz myszach typu dzikiego.

Powyższy opis obejmuje badania biologiczne o charakterze podstawowym obejmujące zagadnienia nad poznaniem mechanizmów infekcji COVID19. Wzorując się na dostępnej literaturze oraz własnym doświadczeniu, organizm zwierząt nie reaguje negatywnie na wykorzystane w badaniu środki farmakologiczne, nieudogodnieniem będą natomiast drogi podawania środków-podskórnie i dootrzewnowe wstrzyknięcia.

#### **Szkody:**

Jeżeli osoba przeprowadzająca doświadczenie zauważy, że u myszy występują objawy prowadzące do duszności, temperatury lub śmierci, takie jak: osowiałość, spadek wagi powyżej (20%), niechęć do przyjmowania pokarmów oraz płynów, uszkodzenia ciała lub problemy z sierścią, zwierzęta te zostaną uśmiercone poprzez podanie środków farmakologicznych. Zwierzęta przed wykonaniem czynności zostaną zważone, aby dobrać odpowiednią ilość środków farmakologicznych. Czynność zostanie wykonana przez osobę doświadczoną, przeszkoloną w zakresie technik uśmiercania zwierząt oraz posiadającą stosowne uprawnienia. Zaplanowane czynności takie jak zastrzyki, podawanie substancji, lub śmierć mogą powodować szkody zwierząt.

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

W doświadczeniu zaplanowano wykorzystanie myszy typu dzikiego oraz transgenicznych w łącznej liczbie 112 osobników.

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

Plan przedłożonego doświadczenia obejmuje zagadnienia związane z rozwojem wiedzy na temat roli oddziaływań pomiędzy stanem zapalnym organizmu (inflamasomem Nlrp3) a układem renina-angiotensyna-aldosteron w patogenezie koronawirusa COVID19, odnosząc się do komórek macierzystych. Badania te będą miały podstawowe znaczenie dla opracowania w przyszłości nowych terapii komórkowych w leczeniu przewlekłych powikłań COVID19.

#### **Zastąpienie**

Przeprowadzone zostaną badania *in vitro* na komórkach wyizolowanych ze szpiku mysz. Przeprowadzając badania *in vivo* będziemy mogli wytypować najbardziej obiecujące czynniki, w celu zastąpienia w przyszłości badań *in vivo* na rzecz badań *in vitro*, aby w przyszłości ograniczyć również liczbę zwierząt użytych w doświadczeniu, niż pierwotnie zaplanowano. Do badań wybrano model zwierzęcy szczepu myszy transgenicznych, ponieważ posiada on ekspresję ludzkiego receptora ACE, który jak wykazały ostatnie doniesienia naukowe ma istotny związek z podatnością na zachorowanie na COVID19, dlatego też jest on powszechnie wykorzystywanym modelem do badań związanych z koronawirusem COVID19. Model myszy z dysfunkcją inflamasomu, pozwoli na szczegółową analizę

---

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

zaplanowanych doświadczeń określających rolę stanu zapalnego organizmu a możliwością zakażenia koronawirusem.

W celu dokładnego poznania roli inflamasyonu oraz układu renina-angiotensyna-aldosteron niezbędne jest wykorzystanie w badaniach modelu zwierzęcego, z uwagi na złożoność układu immunologicznego, szeregu zjawisk oraz ilości czynników mających wpływ na zakażenia koronawirusem.

### **Ograniczenie**

Korzystając z narzędzi pozwalających oszacować liczebność grupy w doświadczeniu planowane jest zbadanie łącznie 112 osobników uwzględniając przy tym dwukrotne powtórzenie eksperymentu (wymóg statystyczny) w celu wykluczenia możliwości błędu. Jest to najmniejsza liczba zwierząt jaką możemy użyć celem prawidłowego przeprowadzenia doświadczenia.

### **Udoskonalenie**

W celu zapewnienia jak najwyższego dobrostanu zwierząt, wykonanie doświadczenia oraz opieka nad nimi zostanie zapewniona przez personel mający duże doświadczenie w pracy ze zwierzętami. Zastosowane indywidualnie wentylowane klatki o powierzchni ~500cm<sup>2</sup> zapewniają komfort przestrzenny zwierzętom. Zwierzęta zostaną utrzymywane grupowo do 5 osobników na klatkę. W klatkach zostaną wprowadzone urozmaicenia poprawiające komfort życia zwierząt. Klatki będą ze wzbogaceniami dla zwierząt. Przeprowadzony zostanie handling mający na celu zminimalizowanie stresu związanego z podjęciem zwierzęcia z klatki i przyzwyczajenia go do chwytu wykonywanego podczas procedury podawania substancji.

Nasz zespół posiada znaczne doświadczenie w pracy z myszami typu dzikiego, a wszystkie procedury zostały zaplanowane na podstawie uzyskanej przez nas dotychczas wiedzy wyniesionej z eksperymentów przeprowadzonych z przeszłości tak, aby ryzyko niepowodzenia i konieczności powtarzania wnioskowanego doświadczenia zostało zminimalizowane. W trakcie uśmiercania zwierząt zostanie wykorzystana ksylazyna/ketamina, aby jak najbardziej zredukować stres i ból myszy.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną<sup>2</sup>

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

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

☒ NIE

---

<sup>2</sup> Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.