

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Hamowanie objawów niewydolności wielonarządowej lekami celującymi w enzymy epigenetyczne.**

2. Czas trwania projektu .....**01/08/2017-01/08/2020** .....

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): sepsa, niewydolność wielonarządowa, cytokiny, enzymy epigenetyczne, geny zapalne.

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): 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 (wg. zasady przystępnie/poufnie/promowanie badań)

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.

Sepsa stanowi poważny i stale rosnący problem medyczny na całym świecie, dotyczący milionów pacjentów, w przypadku 40% zachorowań kończący się zgonem. Sepsę definiuje się ją jako zespół ogólnoustrojowej reakcji zapalnej (SIRS) na czynnik zakaźny np. bakteryjny lipopolisacharyd. W uogólnionej reakcji zapalnej biorą udział liczne cytokiny i chemokiny. W trakcie rozwoju sepsy dochodzi również do zmian na poziomie narządowym, w wyniku których rozwija się ich niewydolność. Standardowe leczenie obejmuje czynności prowadzące do stabilizacji stanu pacjenta przez podniesienia ciśnienia krwi i usunięciu źródła zakażenia z zastosowaniem antybiotykoterapii. Działania te nie zawsze jednak kończą się powodzeniem. Pionierskie badania z użyciem nowej klasy leków epigenetycznych celujących w białka z bromodomenami (Brd4) w mysim modelu sepsy wskazują, że aktywność enzymów działających w obrębie chromatyny i aktywujących ekspresję genów zapalnych może być skutecznie hamowana tym samym niwelując objawy sepsy.

**Celem pracy jest opracowanie metody farmakologicznej interwencji celującej w różne klasy enzymów epigenetycznych z zamiarem łagodzenia objawów sepsy i niewydolności wielonarządowej.**

Badania zostaną przeprowadzone w mysim modelu badawczym sepsy bakteryjnej. Zwierzętom będą podawane leki opisane w literaturze jako skuteczne inhibitory enzymów epigenetycznych. Złożoność mechanizmu sepsy zachodzącego na poziomie komórkowym i tkankowym organizmu oraz złożone interakcje zachodzące pomiędzy poszczególnymi organami powodują,

że tylko zastosowanie modelu zwierzęcego w pełni odzwierciedli skuteczność farmakologiczną tych leków. Pomimo że skuteczność nowych terapii opartych o leki epigenetyczne jest obiecująca, efekt działania tych leków w skali epigenomu jest w dużej mierze nieznany. Tym samym badania podstawowe nad wpływem tych związków na biochemię chromatyny są niezbędne w pracach nad optymalizacją ich stosowania. Mysz model sepsy, w którym dochodzi do szybkiej indukcji mediatorów zapalenia i wyraźnych zmian epigenetycznych, stanowi uznany przedmiot badawczy, a zaproponowany plan badań z użyciem najnowszych technologii genomicznych daje szansę na pełniejsze zrozumienie molekularnego mechanizmu odpowiedzialnego za rozwój MODS w sepsie. Wiedza ta może stanowić podstawę rozwoju nowych, innowacyjnych strategii terapeutycznych, poprawiających skuteczność leczenia sepsy, a tym samym zmniejszyć obciążenia ekonomiczne i społeczne związane z tym zespołem.

Myszy stanowią najniższy z gatunków zwierząt, które mogą być użyte do osiągnięcia tego celu. Spodziewamy się, że zaproponowany eksperyment pozwoli odpowiedzieć czy terapia nowymi lekami epigenetycznymi może przyczynić się do obniżenia ogólnoustrojowej odpowiedzi zapalnej i zniesienia objawów sepsy.

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

280 zwierząt, mysz laboratoryjna ( <i>Mus musculus</i> ), samce szczepu C57BL/6W
--

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

Liczba zwierząt w planowanym doświadczeniu została ograniczona do minimum na podstawie dostępnych informacji literaturowych i obserwacji poczynionych w trakcie wcześniejszych badań. Osobniki nie reagują identycznie na posocznicę zarówno na poziomie objawów klinicznych oraz molekularnym, innymi słowy objawy i przebieg sepsy mogą być heterogenne nawet w wystandaryzowanej ze względu na szczep, płeć i wiek grupie zwierząt (Nat Protoc. 2009; 4(1): 31–36.). Nasze wcześniejsze doświadczenia wskazują, że minimalna liczba zwierząt na punkt czasowy wynosi 8 osobników aby np. w pobranych organach uzyskać istotne różnice w poziomie ekspresji wybranych genów kodujących czynniki prozapalne - TNFa, CCL2 i IL-6. Dla wszystkich grup badanych przewidziane jest odniesienie do tej samej grupy kontrolnej (zasada ograniczenia)

Zwierzętom zostanie zapewniona najlepsza możliwa opieka, w tym także stały (całodobowy) nadzór lekarsko-weterynaryjny, ciągła osłona preparatów przeciwbólowych, podawanie płynów, zapewnienie wyższej temperatury otoczenia. W przypadku gwałtownego pogorszenia stanu zdrowia (zgodnie z opisem w czynności 3) zwierzęta niezwłocznie będą poddawane eutanazji, by śmierć nie była końcowym punktem eksperymentu (zasada udoskonalenia).

Wstępne testy świadczące o skuteczności preparatów zostaną wykonane na hodowlach tkankowych lub/i komórkowych. Do badań zostaną przeznaczone związki i ich synergistyczne kombinacje, dla których osiągnięto najlepsze wyniki w badaniach *in vitro* mierzone skutecznym obniżeniem produkcji TNFa w medium hodowlanym (zasada zastąpienia). W niniejszym projekcie przewidujemy testowanie nowych leków epigenetycznych, które skutecznie hamowały produkcję TNFa w modelu *in vitro* mysich makrofagów, i co do których **nie ma doniesień literaturowych** w powiązaniu z posocznicą.

---

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