

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Modulacja procesów zapalnych z zastosowaniem nowych agonistów receptorów formylowych ALX/FPR2 jako nowa strategia terapeutyczna depresji.**

2. Czas trwania projektu **48 miesięcy**

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) depresja, wygaszanie procesu zapalnego, receptory formylowe ALX/FPR2, agoniści receptorów formylowych

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.

Podłoże zaburzeń depresyjnych jest złożone i pomimo wielu lat badań nie udało się go precyzyjnie zdefiniować. Jednym z czynników sprzyjających rozwojowi depresji jest niewątpliwie nasilony i długotrwały stan zapalny związany z dysfunkcją endogennych procesów kontrolujących jego wyciszenie. Z danych klinicznych wynika, że leki przeciwzapalne wykazują wyraźne działanie przeciwdepresyjne, jednak ze względu na ryzyko wystąpienia poważnych skutków ubocznych wynikających m.in. z całkowitego hamowania w organizmie reakcji zapalnych, ich wykorzystanie w farmakoterapii depresji jest mocno ograniczone. Celem obecnego projektu jest zbadanie możliwości zastosowania nowej strategii leczenia depresji, która polega na wzmocnieniu endogennych mechanizmów wygaszania szkodliwej reakcji zapalnej poprzez stymulację peptydowych receptorów formylowych ALX/FPR2 przy równoczesnym zachowaniu prawidłowych funkcji prozapalnych ratujących życie. Badania będą prowadzone w trzech etapach: *in vitro* na hodowlach pierwotnych

mikrogleju, *ex vivo* na hodowlach organotypowych hipokampa oraz *in vivo* na dorosłych szczurach stanowiących dwa różne zwierzęce modele depresji (stres prenatalny oraz jednorazowe dootrzewnowe podanie lipopolisacharydu). Wzmacnianie wygaszania reakcji zapalnej prowadzone będzie z użyciem nowych moczniko-pochodnych agonistów receptorów ALX/FPR2 zsyntetyzowanych przez naszego partnera zagranicznego oraz porównawczo z wykorzystaniem lipoksyny A4 (LXA4) i jej analogu ATL (ang. *Aspirin-Triggered Lipoxin*) o uznanym potencjale przeciwzapalnym mediowanym poprzez ALX/FPR2.

Mamy nadzieję, że proponowane badania dostarczą nowatorskich wyników, a zaproponowana przez nas innowacyjna strategia przyczyni się do istotnego zwiększenia skuteczności terapii depresji, zwłaszcza u pacjentów z współwystępującą aktywacją zapalną.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Szczur wędrowny (*Rattus norvegicus*), stado Sprague-Dawley, dorosłe zwierzęta: 696, noworodki: 500

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych:

__EBSCO; __PUBMED; __Google Scholar; __AGRICOLA; __ScienceDirect; __Web of Science (JCR);

Wykorzystałam słowa kluczowe:

depresja/ depresja a proces zapalny/ wygaszanie procesu zapalnego (resolution of inflammation, RoI)/ receptory formylowe ALX/FPR2/ agoniści receptorów formylowych/ LXA4/ ALX/ modele depresji/ szczury Sprague-Dawley/

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że:

Depresja jest chorobą o złożonej etiologii. Jedną z przyczyn depresji może być długotrwały proces zapalny, który wiąże się z nadmierną aktywacją mikrogleju i produkcją różnorodnych czynników prozapalnych. Ostatnio wykazano, że proces wygaszania stanu zapalnego jest regulowany przez endogenne molekuly i ich receptory, m. in. N-peptydowe receptory formylowe (ALX/FPR2). Spośród endogennych agonistów, największe powinowactwo do receptorów ALX/FPR2 wykazuje lipoksyna A4 (LXA4). Przyłączenie LXA4 do receptorów ALX/FPR2 indukuje odpowiedź przeciwzapalną, korzystną z punktu widzenia przeciwdziałania objawom depresji. Jednak zarówno LXA4, jak i jej analog ATL wykazują właściwości farmakokinetyczne, które nie pozwalają na ich wykorzystanie w charakterze

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

leków. Dlatego też bardzo atrakcyjnym nurtem wydaje się zbadanie nowych ureidopochodnych agonistów ALX/FPR2 w kontekście ich możliwości zastosowania w hamowaniu nieprawidłowej reakcji zapalnej sprzyjającej rozwojowi depresji. Ponieważ depresja jest chorobą charakteryzującą się zaburzeniami w funkcjonowaniu mózgu, nie można jej modelować na prymitywnych zwierzętach bezkręgowych. Konieczne jest użycie zwierząt kręgowych takich jak szczury, gdyż tylko one posiadają w pełni rozwinięty, wysoko zorganizowany układ nerwowy i rozbudowane życie emocjonalne.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli:

- Poszerzyć wiedzę na temat znaczenia peptydowych receptorów formylowych ALX/FPR2 i ich agonistów w wyciszaniu reakcji zapalnych w mózgu.
 - Stwierdzić, czy nowi, zaprojektowani i zsyntetyzowani przez naszego partnera ureidopochodni agoniści receptorów ALX/FPR2 wspomagają wyciszanie reakcji zapalnych i wykazują właściwości przeciwdepresyjne, a przez to czy mają potencjał do wykorzystania ich w charakterze leków.
- Planowane badania są pionierskie ponieważ w przeciwieństwie do dotychczas stosowanych terapii przeciwzapalnych (m. in. inhibitorami COX-2) proponują wspomaganie/potencjalizację wyciszania reakcji zapalnych zachowując równocześnie aktywność prozapalną decydującą o obronie organizmu przed patogenami, czyli ratującą życie.

Uwzględnienie w projekcie zasad zastąpienia, ograniczenia i udoskonalenia:

Zastąpienie: Jak wspomniano powyżej, modelowanie depresji wymaga użycia zwierząt o wysoko rozwiniętym układzie nerwowym. Dlatego też do zaplanowanych doświadczeń niezbędne jest wykorzystanie szczurów, których nie da się zastąpić prymitywnymi organizmami bezkręgowymi lub zastosowaniem jedynie metod *in vitro*. Jednakże znaczną część badań na żywych zwierzętach planujemy zastąpić badaniami *in vitro* na hodowlach pierwotnych mikrogleju oraz *ex vivo* na hodowlach organotypowych kory czołowej. Strategia taka pozwoli ograniczyć liczbę zwierząt wykorzystanych w projekcie.

Ograniczenie: Na podstawie naszego dotychczasowego doświadczenia, a także wnikliwie przestudiowanych danych literaturowych ustalono minimalne liczebności grup badawczych pozwalające na otrzymanie wiarygodnych, rzetelnych i statystycznie istotnych wyników. Ponadto w celu ograniczenia liczby zwierząt, do przygotowywania hodowli mikrogleju i hodowli organotypowych postanowiono wykorzystywać noworodki obu płci. Ponieważ płeć mózgu nie zaznacza się na tak wczesnym etapie rozwoju postnatalnego, łączne użycie osesków obu płci nie odbije się negatywnie na rzetelności wyników projektu, a pozwoli znacznie ograniczyć liczbę samic-matek oraz samców potomnych koniecznych do wykorzystania w przypadku wykonywania wszystkich doświadczeń wyłącznie na potomstwie płci męskiej.

Udoskonalenie: W projekcie zostaną wykorzystane hodowle pierwotne mikrogleju oraz hodowle organotypowe kory czołowej. Hodowle komórek mikrogleju są bardzo dogodnym narzędziem umożliwiającym badanie *in vitro* właściwości nowych związków. Pozwalają one na zastosowanie różnorodnych manipulacji takich jak wyciszanie ekspresji genów czy inhibicja określonych białek, które byłyby trudne do przeprowadzenia na żywych organizmach, a które wnoszą bardzo wiele cennych informacji na temat mechanizmów działania testowanych związków. Badania na komórkach mikrogleju zostaną uzupełnione o badania na hodowlach organotypowych hipokampa. Hodowle organotypowe pozwalają na zachowanie cytoarchitektury i funkcjonalnych połączeń międzykomórkowych mózgu w

warunkach *ex vivo*. Hodowle takie dają bardzo duże możliwości modulowania komunikacji neuron-mikroglej, co stanowi novum w tego typu badaniach.

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.