

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Rola cytokin pro- i przeciwzapalnych w regulacji uszkodzenia i regeneracji wątroby danio pręgowanego (*Danio rerio*)

2. Czas trwania projektu od 01.09.2018 do 31.12.2020

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) autokleza, cytokiny, mikrocystyna, oatp, wątroba

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.

Niedawno odkryliśmy, że krótka ekspozycja siei na mikrocystynę-LR (toksynę sinicową) powoduje uszkodzenie wątroby, ale w dłuższym okresie kolejne dawki tej substancji nie wywołują negatywnych skutków, co pozwala na regenerację uszkodzonego narządu. Wstępne wyniki wskazują, iż cytokiny mogą odgrywać znaczenie w zaobserwowanym procesie obronnym komórek wątroby przed zatruciem kolejnymi dawkami mikrocystyny. Celem projektu jest określenie roli wybranych cytokin pro- i przeciwzapalnych w procesie regulacji przebiegu uszkodzenia i regeneracji wątroby u danio pręgowanego (*Danio rerio*) pod wpływem mikrocystyny-LR. Wykorzystując szeroki zestaw metod badawczych, w pierwszej kolejności zamierzamy szczegółowo udokumentować przebieg uszkodzenia i regeneracji wątroby ryb pod wpływem mikrocystyny-LR. Następnie, stosując jednoczesną ekspozycję na mikrocystynę-LR i związki stymulujące lub hamujące odpowiedź immunologiczną ryb, chcemy

sprawdzić, które elementy układu odpornościowego wchodzą w interakcję z komórkami wątroby podczas uszkodzenia i regeneracji tego narządu. W końcu, wykorzystując wyciszające RNA chcemy potwierdzić zaangażowanie wytypowanych wcześniej elementów układu odpornościowego w odpowiedź ryb na zatrucie mikrocystyną-LR. Do tej pory, nie przeprowadzono badań, które w pełni wypełniałyby lukę w naszej wiedzy na temat funkcji cytokin w przebiegu histopatologicznych zmian spowodowanych hepatoksycznym działaniem mikrocystyny-LR. Szeroki zakres proponowanych badań molekularnych, uzupełnionych o pomiar wskaźników biochemicznych i opis zmian histologicznych wątroby ryb eksponowanych na mikrocystynę-LR (w połączeniu ze związkami hamującymi lub stymulującymi odporność ryb) pozwoli na zrozumienie konsekwencji wynikających z ingerencji w główne sieci regulatorowe komórek układu immunologicznego, a także umożliwi określenie ich zdolności do nasilania lub osłabiania skutków toksycznego uszkodzenia wątroby. Wyniki projektu mogą być w przyszłości wykorzystane jako atrakcyjne podejście terapeutyczne do spowolnienia lub nawet zapobieżenia toksycznego uszkodzenia wątroby.

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

GATUNEK: Danio pręgowany (*Danio rerio*)

CAŁKOWITA LICZBA ZWIERZĄT: 300 ryb

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

Mikrocystyna-LR jest powszechnie wykorzystywana jako modelowy związek prowadzący do toksycznego uszkodzenia wątroby z kluczowym dla przebiegu tego procesu udziałem szlaku białek aktywnego transportu (ang. organic-anion-transporting polypeptides; OATP). Chociaż dostępna literatura zawiera obszerne dane na temat zmian w wątrobie ryb pod wpływem ekspozycji na mikrocystynę-LR, to związek pomiędzy układem odpornościowym a uszkodzeniem i regeneracją wątroby jest opisany w znacznie mniejszym stopniu.

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem

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

badawczym, w bazach danych: Web of Science (JCR); Scopus; PUBMED. Wykorzystano następujące słowa kluczowe: microcystin/cytokine/oatp. Liczba wyszukanych publikacji: 0. Na podstawie przeszukiwania istniejącej literatury, stwierdzono brak danych dotyczących zdolności cytokin do regulacji ekspresji białek aktywnego transportu OATP pod wpływem zatrucia mikrocyzyną-LR. Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na zweryfikowanie hipotezy o istnieniu funkcjonalnego powiązania pomiędzy wybranymi elementami układu odpornościowego a białkami aktywnego transportu w wątrobie ryb podczas zatrucia mikrocyzyną-LR.

W proponowanym wniosku uwzględniono zasadę 3R.

Replacement: W projekcie zaplanowano zarówno badania in vitro jak i in vivo. W celu sprawdzenia hipotezy na temat interakcji komórek wątroby i układu odpornościowego, koniecznym jest przeprowadzenie badań in vivo, gdyż nie istnieją obecnie modele komórkowe umożliwiające prześledzenie odpowiedzi całego organizmu zachodzącą w tym procesie. Jednakże, wyniki uzyskane w ramach in vivo będą uzupełniane w dalszym układzie in vitro, tzn. rola wytypowanych cytokin i ich oddziaływanie na konkretne typy komórek będzie potwierdzana w hodowlach in vitro. Do badań wybrano gatunek kręgowca o możliwie najniższym poziomie rozwoju oraz zdolności odczuwania bólu i cierpienia. Wyniki uzyskane w tym eksperymencie mogą także posłużyć do wyjaśnienia procesów degeneracji oraz regeneracji wątroby u innych kręgowców, w tym człowieka.

Reduction: Ilość osobników w grupach została obliczona w oparciu o wzór Snedecor'a i Cochran'a (1989). Zmniejszenie tej liczby ryb może się wiązać z uzyskaniem wyników nieistotnych statystycznie, a tym samym naraziłoby zwierzęta na niepotrzebne i bezzasadne użycie. Ponadto, ze względu na niewielki rozmiar dorosłych osobników ryb, zmniejszenie liczebności osobników w grupach nie będzie gwarantować minimalnego uzysku materiału badawczego.

Refinement: W czasie przeprowadzania eksperymentu ryby będą przetrzymywane w kontrolowanych warunkach, które znacznie przewyższają minimalne normy hodowli dla tego gatunku. Opisane w doświadczeniu czynności są standardowymi czynnościami wykonywanymi w wielu ośrodkach naukowych na całym świecie. Wykonujący mają duże doświadczenie w badaniach z wykorzystaniem ryb w tym w czynnościach opisanych we wniosku. Dzięki wieloletniej praktyce potrafią przeprowadzać opisane procedury w sposób sprawny oraz przy minimalnym bólu oraz stresie zwierząt. W ramach czynności doświadczalnych zaplanowana anestezja jest standardową procedurą w przypadku ryb i liczne

badania naukowe potwierdzają jej skuteczność oraz brak negatywnego wpływu na zwierzę. Doświadczenie zostanie przeprowadzone w warunkach i w sposób ograniczający do minimum stres oraz cierpienie zwierząt. Po zakończeniu doświadczenia zwierzęta zostaną poddane eutanazji w sposób humanitarny i eliminujący stres, poprzez przedawkowanie środka anestetycznego.

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.