

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „**Rola autofagii w zapaleniu mięśnia sercowego w modelu mysim**”

2. Czas trwania projektu: **47 miesięcy**

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) zapalenie mięśnia sercowego, pozapalne zwłóknienie, autofagia, Atg5, echokardiografia

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 charakteryzuje się napływem komórek zapalnych do śródsierdzia, które często spowodowane jest infekcjami wirusowymi (w tym SARS-CoV2) lub bakteryjnymi czy zakażeniami niektórymi pasożytami. Część pacjentów z zapaleniem mięśnia sercowego rozwija niewydolność lewo- lub obukomorową spowodowaną pozapalnym zwłóknieniem śródmiąższowym i okołonaczyniowym. Celem doświadczeń jest zrozumienie znaczenia procesu autofagii (czyli „samozjadania” komórki - naturalnego procesu degradacji komponentów komórkowych w lizosomach) na rozwój zapalenia oraz pozapalnego zwłóknienia w mięśniu sercowym. W tym celu, zaproponowaliśmy wieloaspektowe badania z wykorzystaniem mysiego modelu zapalenia mięśnia sercowego (ang. experimental autoimmune myocarditis - EAM). Jak dotąd niewiele wiadomo na temat roli autofagii w modelu EAM, a pojedyncze dostępne doniesienia nie są spójne. W naszych badaniach chcemy 1) zidentyfikować populacje komórkowe, w których następuje aktywacja procesu autofagii w odpowiedzi na ostry stan zapalny w mięśniu sercowym, 2) określić wpływ trzech farmakologicznych modulatorów autofagii na rozwój choroby, 3) zbadać wpływ zablokowania autofagii na poziomie genowym w linii komórek mieloidalnej i 4) określić wpływ autofagii na adhezję komórek mieloidalnych do komórek śródbłónki mięśnia sercowego. Do badań w modelu EAM będziemy wykorzystywać zarówno ogólnie

dostępne farmakologiczne modulatory autofagii jak i wykorzystamy specjalistyczne myszy transgeniczne, a oznaczenia będą przeprowadzane przy użyciu najnowocześniejszych technologii (m.in. single cell RNAseq, cytometria przepływowa i inne). Uważamy, że proponowane badania pozwolą na osiągnięcie znaczącego postępu w poznaniu mechanizmów rządzących stanem zapalnym w obrębie mięśnia sercowego oraz przyczynią się do rozwoju nowych terapii skierowanych do pacjentów z zapalnymi schorzeniami kardiologicznymi.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Myszy domowa w liczbie 352 sztuk

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);

Wykorzystałem słowa kluczowe:

myocarditis/ autophagy/ experimental autoimmune myocarditis/ Atg5/ chloroquine/ resveratrol/ bafilomycin/ microvascular endothelial cells

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzam, że:

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że: zablokowanie autofagii przy użyciu 3-metyladeniny chroni przed rozwojem choroby w mysim modelu EAM indukowanym aktywną immunizacją. Ponadto wykazano, że u szczurów aktywacja autofagii poprzez podanie resweratrolu w modelu EAM chroni przed rozwojem stanu zapalnego. Inne dane nie są znane. Opublikowane wyniki są niespójne i nie pozwalają jednoznacznie określić roli autofagii w rozwoju zapalenia mięśnia sercowego.

B. Brak danych eksperymentalnych efektu podania chlorochiny, bafilomycyny i resweratrolu w mysim modelu EAM.

C. Brak danych na temat roli autofagii w pozapalnym zwłóknieniu w mięśniu sercowym.

D. Brak danych eksperymentalnych z modeli zwierzęcych pokazujących efekt nokautu genowego Atg5 w linii komórek mieloidalnych na funkcję serca w stanie zapalnym.

E. Rola Atg5 w modelu EAM nie jest znana.

F. Rola autofagii na aktywację sercowego śródbłónka w stanie zapalnym nie jest znana.

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

Zrozumienie roli autofagii w zapaleniu mięśnia sercowego może mieć ważne implikacje kliniczne. Inhibitory autofagii, chlorochinina i hydroksychlorochinina, są dobrze tolerowanymi lekami zatwierdzonymi przez FDA i są od wielu lat stosowane w leczeniu malarii czy chorób reumatycznych. Podobnie, pro-autofagiczny środek resweratrol jest szeroko stosowany jako suplement diety. Warto nadmienić, że niektóre modulatory autofagii są także używane podczas leczenia pacjentów COVID-19, u których w związku z tą chorobą może rozwinąć się zapalenie i/lub zwłóknienie mięśnia sercowego.

Użycie zatwierdzonych leków oznacza potencjalnie bardzo szybką ścieżkę wdrożenia strategii leczniczych opartych na regulacji procesów autofagii. Badania nad działaniem ogólnie dostępnych farmakologicznych modulatorów autofagii zostaną uzupełnione badaniami z wykorzystaniem specjalistycznych narzędzi genetycznych oraz najnowocześniejszych technologii. Stosując taką wielokierunkową strategię badawczą, będziemy w stanie znacząco przyczynić się do poznania roli autofagii w chorobach zapalnych mięśnia sercowego. Biorąc pod uwagę podjęte kroki w celu minimalizacji cierpienia zwierząt uważamy przeprowadzenie przedstawionych badań za uzasadnione ze względu na płynące korzyści naukowe, a zwłaszcza na wynikające z nich cele terapeutyczne.

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. 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.

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 myszy na tle genetycznym BALB/c pozwala na ograniczenie dotkliwości ze względu na rozwój umiarkowanej formy choroby.

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.