

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projekt „Wpływ paszy wysokotłuszczowej na przejście epitelialno-mezenchymalne”
2. Czas trwania projektu .....28 miesięcy
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) ..NAFLD, wątroba, MCPIP1, EMT.....
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.

Niealkoholowa stłuszczeniowa choroba wątroby (NAFLD) jest jednym z najczęstszych schorzeń wątroby wśród osób z krajów wysokorozwiniętych. Wyniki otrzymane przez nasz zespół wskazują, że białko MCPIP1, będące negatywnym regulatorem stanu zapalnego hamuje różnicowanie preadipocytów, poprzez degradację mRNA C/EBP $\beta$ , ważnego regulatora adipogenezy. Zaobserwowaliśmy także indukcję MCPIP1 w komórkowym modelu NAFLD. Co więcej, wykazaliśmy, że w czasie procesu nowotworzenia, poziom białka MCPIP1 spada i że białko to może odgrywać kluczową rolę w aktywacji bądź regulacji procesu EMT.

Dlatego, celem projektu jest określenie przebiegu niealkoholowej stłuszczeniowej choroby wątroby (NAFLD) na przejście epitelialno-mezenchymalne i zbadanie znaczenia białka MCPIP1 (ang. Monocyte Chemotactic Protein-1 Induced Protein) w tych procesach.

Wykorzystana zostanie jedna grupa zwierząt: myszy szczepu C57BL/6J. Do indukcji NAFLD u myszy wykorzystamy paszę wysokotłuszczową podawaną ad libitum przez okres 20 tygodni. Jest to powszechnie stosowany model NAFLD, który odzwierciedla przebieg tej choroby u ludzi. Zwierzęta kontrolne będą otrzymywać dietę kontrolną zawierającą smalec lub nie.

Wykonanie badań in vivo u myszy pozwoli na zweryfikowanie hipotezy badawczej dotyczącej istotnej funkcji białka MCPIP1 w rozwoju NAFLD. Doprowadzimy do rozwoju NAFLD u myszy dzięki zastosowaniu specjalistycznej paszy hodowlanej zawierającej 60% kcal pochodzących z tłuszczu. Dieta tego typu pozwala na uzyskanie stłuszczenia wątroby i odpowiada początkowym stadiom tej choroby obserwowanym u ludzi. Ocenimy, czy rozwój NAFLD zależy od białka Mcpip1 ulegającego ekspresji w hepatocytach. Po uśmierceniu zwierząt analizie poddamy wątroby oraz materiał pobrany z wątroby.

Uzyskany materiał zostanie poddany analizie histopatologicznej w celu zbadania poziomu MCPIP1, markerów naczyń krwionośnych (CD31, CD144), markerów naciekających makrofagów (F4/80) i neutrofili (7/4). Izolacja RNA z płuc, szpiku i wątroby pozwoli ocenić poziom ekspresji genów za pomocą reakcji PCR w czasie rzeczywistym. Białko uzyskane z wątroby zanalizujemy także z przy użyciu macierzy białkowych. Wykorzystując metodę Luminex, która pozwala analizować do kilkudziesięciu cytokin w próbce, zanalizujemy także mysie osocze a izolacja pierwotnych komórek z wątroby myszy pozwoli nam na kontynuowanie badań w warunkach in vitro.

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

60 myszy, *Mus musculus*; Szczep: C57BL/6

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

Zastąpienie - Ze względu na charakter doświadczenia które ma na celu pomiar procesów in vivo nie ma możliwości zastąpienia badaniami in vitro opisanych procedur. Żadna metoda laboratoryjna nie odda w pełni tego procesu, w którym biorą udział, oprócz komórek wątroby (hepatocyty, komórki gwiaździste, komórki Kupfera, komórki śródbłónka, makrofagi wątrobowe, komórki NK, komórki progenitorowe) również adipocyty czy leukocyty z krwi. Badania in vitro, w których usuwa się z pożywki hodowlanej np. surowicę nie odzwierciedlają prawidłowo mechanizmów zachodzących w

wątrobie. Dlatego tak ważne jest opracowywanie modeli in vivo, które pozwolą lepiej zrozumieć procesy fizjologiczne jak i patofizjologiczne zachodzące w wątrobie. Najlepszym modelem w tym przypadku jest mysz, której wątroba zarówno w budowie jak i fizjologii odpowiada ludzkiej wątrobie. Z tego względu nie jest możliwe zastąpienie doświadczeń z użyciem zwierząt laboratoryjnych metodami in vitro. W przypadku użycia zwierząt mniej rozwiniętych (bezkęgowce, Danio rerio), nie jest możliwe podanie odpowiedniej diety i badanie procesu rozwoju NAFLD. Organizm zwierząt bezkręgowych jest znacząco odmienny od organizmu ssaków. W związku z tym, zastąpienie zwierząt kręgowych w poniższym projekcie zwierzętami bezkręgowymi nie jest możliwe.

Ograniczenie- Liczebność grup została zminimalizowana do 20 osobników na grupę poprzez zmniejszenie zmienności w ich obrębie. Użyta liczba zwierząt pozwoli nam na uzyskanie zdecydowanie bardziej wiarygodnych wyników.

Udoskonalenie- Zwierzętom zostanie zapewniony odpowiedni czas na aklimatyzację, a także stabilne środowisko (wilgotność, temperatura, odpowiednia pasza). W trakcie trwania eksperymentu zwierzęta nie powinny być narażone na dodatkowy dystres. W pojedynczej klatce hodowanych będzie 5 osobników by uniknąć długotrwałego dystresu związanego z możliwym przegęszczeniem.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną

- TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy

☐ NIE