

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Udział limfocytów T i monocytów w produkcji prozapalnej cytokiny TNF-alfa w modelu zapalenia mięśnia sercowego**

2. Czas trwania projektu 20.07.2017 – 31.12.2020

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) zapalenie mięśnia sercowego, TNF-alfa, limfocyty T, zapalne komórki mieloidalne

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.

Prozapalna cytokina TNF-alfa odgrywa ważną rolę w aktywacji śródbłonna, która umożliwia wniknięcie komórek zapalnych do tkanki i powstania stanu zapalnego. Celem tego projektu jest zidentyfikowanie udziału limfocytów T oraz komórek mieloidalnych (monocytów) w powstawaniu zapalenia poprzez produkcję prozapalnej cytokiny TNF-alfa w modelu eksperymentalnym autoimmunologicznego zapalenia mięśnia sercowego (ang. experimental autoimmune myocarditis - EAM). Model ten polega na immunizacji myszy (poprzez podskórną iniekcję, która wywołuje reakcję immunologiczną) peptydem specyficznym dla mięśnia sercowego skutkującym zapaleniem mięśnia sercowego. W tym modelu będą użyte specjalne transgeniczne myszy nie produkujące TNF-alfa odpowiednio w linii limfoidalnej T lub mieloidalnej. Celem doświadczeń jest oznaczenie i charakterystyka stopnia rozwoju stanu zapalnego w sercu które pozwoli na określenie wpływu TNF-alfa produkowanego przez limfocyty T jak i przez komórki mieloidalne na rozwój choroby. Ponadto projekt zakłada badania interakcji komórek zapalnych (izolowanych z serca w stanie zapalnym) z komórkami śródbłonna w modelu in vitro. Zrozumienie mechanizmów patofizjologicznych jest niezbędne do opracowania skutecznej terapii chroniącej przed konsekwencjami zapalenia mięśnia sercowego czyli pozapalnym zwłóknieniem, które u ludzi prowadzi do przedwczesnej śmierci.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W badaniach zostaną użyte następujące myszy na tle genetycznym BALB/c:

1) CD4-Cre x TNFa-fl/fl (n= 30), 2) LysM-Cre x TNFa-fl/fl (n= 30), 3) TNFa-fl/fl (n= 60), 4) BALB/c (dzikie) (n= 30)

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);

Wykorzystałam/em słowa kluczowe:

Experimental autoimmune myocarditis/ TNF-alpha/ CD4 T cells/ inflammation/ CD4-Cre

LysM-Cre/ TNF-alpha-floxed mice/ cardiac microvascular endothelial cells

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzam, że:

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że: zablokowanie TNF-alfa (przy użyciu przeciwciał neutralizujących), chroni przed rozwojem choroby w modelu EAM. Ponadto wykazano, że stosowanie Infliximabu (czyli przeciwciała neutralizującego działanie TNF-alfa, które jest w użyciu klinicznym przy leczeniu m.in. chorób o podłożu autoimmunologicznym) u pacjentów z niewydolnością serca nie przyniosło oczekiwanych wyników, a w niektórych przypadkach spowodowało pogorszenie się ich stanu zdrowia.

B. Brak jest danych które jednoznacznie pozwoliłyby wskazać który komponent układu immunologicznego odpowiada za prozapalne działanie TNF-alfa w mięśniówce serca.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na: stwierdzenie kiedy i które komórki produkują prozapalny TNF-alfa przyczyniający się do rozwoju choroby. Wyniki te rzucą światło na przyczyny niepowodzenia terapii Infliximabunem u pacjentów z chorobami serca i pozwolą określić warunki w których terapię przeciwcytokinową mogą być potencjalnie niebezpieczne. Zaproponowane systemy Cre-loxP są obecnie najbardziej metodologicznie zaawansowanym systemem to tego typu badań, które w sposób bardzo precyzyjny wyłączają produkcję TNF-alfa w wybranych typach komórek. W naszej opinii przeprowadzenie tego typu eksperymentów i opublikowanie danych pozwoli na precyzyjne określenie roli TNF-alfa w różnych fazach choroby (ze względu na różną aktywność limfocytów T i monocytów w poszczególnych fazach choroby). Pozwoli to na pełniejsze zrozumienie patofizjologii zapalenia mięśnia sercowego, które jest niezbędne do zaprojektowania skutecznych terapii celowych.

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.

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 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.

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

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