

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „**Badanie wpływu roli cytokiny TNF-alfa na funkcję mięśnia sercowego w stanie zapalnym w modelu mysim**”

2. Czas trwania projektu: **15 miesięcy**

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) zapalenie mięśnia sercowego, TNF-alfa, limfocyty T, 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 jest najczęstszą przyczyną patologicznego nagromadzenia tkanki łącznej w śródsierdziu, czyli tak zwanego zwłóknienia powodującego kardiomiopatię oraz niewydolność serca. Badania na modelach zwierzęcych, wsparte obserwacjami klinicznymi, pokazują, że limfocyty T CD4⁺ rozpoznające antygeny specyficzne dla mięśnia sercowego są odpowiedzialne za występowanie stanu zapalnego. Celem tego badania jest ustalenie roli cytokiny prozapalnej TNF-alfa na funkcję mięśnia sercowego w modelu spontanicznego zapalenia mięśnia sercowego (myszy TCRM). W tym modelu transgeniczna ekspresja receptora limfocytów T (TCR), który to receptor rozpoznaje antygen specyficzny dla mięśnia sercowego (łańcuch ciężki miozyny) powoduje zwiększoną obecność autoreaktywnych limfocytów T i w konsekwencji zapalenie mięśnia sercowego. Efekt TNF-alfa na rozwój kardiomiopatii będzie badany poprzez skrzyżowanie myszy TCRM z myszami z genetycznym nokautem genu odpowiedzialnego za produkcję cytokiny TNF-alfa (myszy *Tnfa*^{-/-}) oraz pomiary echokardiograficzne. Efekty badania mają na celu między innymi przyczynić się do określenia molekularnych celów dla nowych terapii ukierunkowanych na leczenie kardiomiopatii zapalnej. Zrozumienie mechanizmów patofizjologicznych oraz wytypowanie właściwych celów jest niezbędne do opracowania skutecznych

terapii chroniących przed konsekwencjami kardiomiopatii zapalnej, które u ludzi prowadzą do przedwczesnej śmierci.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Myszy domowa w liczbie 48 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/ heart failure/ TNF-alpha / TCRM mice / mouse model

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 indukowanym aktywną immunizacją. 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 danych eksperymentalnych z modeli zwierzęcych pokazujących efekt nokautu genowego cytokiny TNF-alfa na funkcję serca w stanie zapalnym.

C. Rola cytokiny TNF-alfa w modelu TCRM nie jest znana.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na stwierdzenie w jaki sposób prozapalna cytokina TNF-alfa przyczynia się do rozwoju odpowiedzi autoimmunologicznej w zapaleniu mięśnia sercowego oraz na jego funkcję. 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. W naszej opinii przeprowadzenie tego typu eksperymentów i opublikowanie danych pozwoli na bardziej precyzyjne określenie roli TNF-alfa w różnych etapach choroby. Pozwoli to na pełniejsze zrozumienie patofizjologii zapalenia mięśnia sercowego, które jest niezbędne do zaprojektowania skutecznych terapii celowych.

Zastąpienie: Użycie myszy TCRM pozwala na *zastąpienie* indukcji zapalenia mięśnia sercowego przy użyciu immunizacji w obecności silnego adjuwantu. Ponadto, użycie modeli mysich pozwala na *zastąpienie* dostępnych modeli szczurzych (które to szczury są na wyższym stopniu rozwoju ewolucyjnego w porównaniu do myszy). Równocześnie, nie istnieją alternatywne modele (np. *in vitro*, czy *in silico*, lub modele oparte o zwierzęta będące

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

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 zwierząt doświadczalnych.

Ograniczenie: Proponowana liczba zwierząt jest minimalną przy której jesteśmy w stanie w sposób wiarygodny odpowiedzieć na zadane pytania badawcze. W doświadczeniach uwzględnione zostały jedynie niezbędne grupy badawcze pozwalające wyciągnąć racjonalne wnioski z opisanych eksperymentów. Dodatkowo, proponowana liczba zwierząt wynika z naszego wieloletniego doświadczenia w pracy nad zwierzęcymi modelami zapalenia serca, które skutkuje ograniczeniem do niezbędnego minimum liczby zwierząt wykorzystywanych w doświadczeniach.

Udoskonalenie: Użycie myszy TCRM stanowi *udoskonalony* model do badań nad rolą komórek autoreaktywnych w zapaleniu mięśnia sercowego w stosunku do modelu klasycznego indukowanego przy użyciu peptydu i silnego adjuwanta, którego podanie może powodować podrażnienie skóry zwierząt co może prowadzić do powstawania ran. Brak inwazyjnych procedur ogranicza dystres zwierząt do minimum. Ponadto, zapewnione będzie wzbogacenie środowiska bytowania zwierząt poprzez dostarczenie dodatkowych schronień (tekturowe lub plastikowe rurki lub/i domki) oraz dodatkowego materiału na gniazda. Zwierzęta będą obsługiwane przez doświadczonych pracowników, będą przyzwyczajane do kontaktu z eksperymentatorami i wykonywanych procedur. Pozwoli to znacząco zmniejszyć stres myszy w trakcie doświadczenia.

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.