

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu .. „**Receptor farnezylowy X w mózgu - nowy element w patomechanizmie ostrej encefalopatii wątrobowej**”

2. Czas trwania projektu01.08.2017 – 31.12.2018.....

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) ... encefalopatia wątrobowa, zwierzęce modele chorób, receptor farnezylowy X, kwasy żółciowe.....

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.

W ramach niniejszego wniosku planowane są badania określające lokalizację, ekspresję i aktywację receptora farnezylowego X (FXR) w mózgu w przebiegu ostrej encefalopatii wątrobowej (EW). EW to złożony zespół objawów neuropsychiatrycznych o różnym nasileniu – od dyskretnego pogorszenia funkcji intelektualnych i zaburzeń zachowania, przez różnorodne objawy neurologiczne i narastające zaburzenia świadomości aż do śpiączki, do których dochodzi wskutek przewlekłej bądź ostrej niewydolności wątroby. Jest poważnym wyzwaniem współczesnej medycyny, przyjmuje się że EW dotyka ~70% pacjentów z przewlekłymi chorobami wątroby. FXR jest receptorem jądrowym, odkrytym pod koniec ubiegłego wieku, którego endogennym ligandem są kwasy żółciowe. Reguluje on ich syntezę i homeostazę. Występuje powszechnie w wątrobie i jelitach, natomiast nie jest jasne na ile

jest zaangażowany w kontrolowanie objawów neurologicznych w EW. Wykazano, że krążące w nadmiarze kwasy żółciowe w surowicy w następstwie ostrego uszkodzenia wątroby, przechodzą przez uszkodzoną barierę krew mózg i przyczyniają się do objawów EW na drodze aktywacji FXR.

Planowane procedury obejmują wywołanie ostrego modelu encefalopatii wątrobowej przez podanie hepatotoksyny, tioacetamidu. Po trzech dniach zwierzęta zostaną uśmiercone, a krew, mózgi i wątroba pobrane na oznaczenia histologiczne i biochemiczne ekspresji, lokalizacji i aktywności FXR oraz poziomu kwasów żółciowych.

Oczekuje się, że zrealizowanie planowanych badań udzieli odpowiedzi na pytanie czy w warunkach ostrej EW dochodzi do akumulacji kwasów żółciowych i zmienionej ekspresji receptora farnesylogowego X w mózgu oraz czy zmiany w mózgu korelują z kierunkiem zmian obserwowanych w wątrobie i surowicy. Ma to na celu opracowanie w przyszłości nowych terapii EW opartych o modulację tej ścieżki sygnałowej.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Szczury stada Sprague Dawley (SD) Tac:Cmd:SD – stado niekrewniacze (outbredowe), 32 osobniki, dorosłe samce

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Po przeszukaniu baz danych dotyczących metod alternatywnych ograniczających liczbę zwierząt bądź całkowicie je wykluczających, wobec braku odpowiednich modeli nie-zwierzęcych postanowiono zrealizować plan badawczy z wykorzystaniem najmniejszej z możliwych liczby zwierząt, która zapewni osiągnięcie celu badawczego i statystycznego, ze szczególną dbałością o stosowanie zasad 3R.

Przygotowując projekt badawczy sprawdzono stan istniejącej wiedzy w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych PUBMED, SCOPUS i Google Scholar wykorzystując słowa kluczowe: hepatic encephalopathy, acute liver failure, farnesoid X receptor, bile acid, blood brain barrier.

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

Na podstawie istniejącej literatury stwierdzono, że EW jest zespołem zaburzeń neuropsychiatrycznych towarzyszącym ostrym oraz przewlekłym uszkodzeniom wątroby. Zaburzenie funkcji ośrodkowego układu nerwowego jest zwykle wywołane neurotoksycznym działaniem amoniaku, który zaburza między innymi przewodnictwo nerwowe oraz powoduje obrzęk mózgu. Dane statystyczne pochodzące z bazy Eurostat z roku 2010 wskazują, że została ona jak dotąd zdiagnozowana u około 1 miliona mieszkańców krajów Unii Europejskiej, wśród których Polska plasuje się na 4 miejscu. Liczba zgonów rocznie wynosi 15/100 000 i przekracza liczbę zgonów z powodu cukrzycy, nowotworu piersi czy jelita grubego.

Badanie mechanizmów i potencjalnych terapii EW u człowieka niesie ze sobą konieczność użycia gryzoni jako organizmów modelowych. Złożoność tego schorzenia, gdzie niewydolność wątroby prowadzi do zmian neurologicznych nie pozwala na wykorzystanie organizmów prostszych – rośliny, bezkręgowce ani na ograniczenie się wyłącznie do hodowli komórkowych. Szczur jest ogólnie przyjętym zwierzęciem modelowym w badaniach nad procesami uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego w EW. Do zaplanowanego doświadczenia wybrano gatunek pozwalający na uzyskanie wiarygodnych i porównywalnych z innymi zespołami na świecie wyników. Układów o takim stopniu skomplikowania nie da się zastąpić modelami *in vitro*. Nie można zastosować alternatywnej metody badawczej zapewniającej osiągnięcie celu bez wykorzystania zwierząt.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na ocenę stopnia udziału zaburzeń sygnalizacji przez kwasy żółciowe w patomechanizmie ostrej EW. Wyniki badań posłużą w odkryciu roli aktywacji receptora FXR w powstawaniu zaburzeń neurologicznych, a w dalszej kolejności mogą być wykorzystane w opracowaniu efektywnej terapii EW z wykorzystaniem związków regulujących zaburzony w tym schorzeniu metabolizm kwasów żółciowych.

Zaplanowana w doświadczeniu ilość zwierząt jest najmniejszą z możliwych do przeprowadzenia wiarygodnych badań statystycznych (analiza mocy testu w programie Statistica). Wykorzystywane zwierzęta będą przebywały w warunkach odpowiednich dla ich gatunku, a metody badawcze zastosowane w procedurach zostały wybrane tak, aby ograniczały do minimum albo eliminowały ból, cierpienie i dystres. Zwierzęta poddane będą okresowi adaptacji do nowego otoczenia, a w czasie eksperymentu będą przebywały w otoczeniu, które zminimalizuje stres. Każda procedura zostanie zakończona humanitarnym uśmierceniem zwierzęcia.