

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Określenie dynamiki rozwoju dysfunkcji śródbłonka naczyniowego i narządowego wywołanej endotoksemią u myszy starzejących się.**

2. Czas trwania projektu 36 miesięcy

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) endotoksemia, sepsa, dysfunkcja śródbłonka, myszy starzejące się

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) A. Badania podstawowe

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.

Sepsa jest ogólnoustrojową odpowiedzią organizmu na zakażenie. Główną przyczyną śmiertelności z powodu wstrząsu septycznego są uszkodzenia wielonarządowe (MODS), a dysfunkcja śródbłonka odgrywa kluczową rolę w ich powstawaniu. Dotychczas większość badań na mysich modelach endotoksemii wykonywanych jest na młodych osobnikach, brak natomiast wystarczającej ilości prowadzonych eksperymentów skupiających się na zrozumieniu zmian zachodzących w trakcie rozwoju endotoksemii u osobników starszych, u których postępy choroby wydają się być bardziej gwałtowne.

Celem doświadczenia jest określenie różnic w funkcjonowaniu śródbłonka u myszy starzejących się (10 i 16 miesięczne myszy) w odpowiedzi na rozwój endotoksemii poprzez zdefiniowanie wzoru zmian

obserwowanych w osoczu/wybranych narządach badanych myszy wykorzystując panel biomarkerów białkowych związanych z dysfunkcją śródbłónka.

Jednoczesne oznaczenie ilościowe 18 markerów śródbłonkowych zostanie przeprowadzone przy użyciu innowacyjnej metody proteomiki celowanej, która wykorzystuje połączenie wysokosprawnej chromatografii cieczowej z tandemową spektrometrią mas.

W ramach planowanych badań zostanie oceniony również stopień dysfunkcji narządowej i ogólnoustrojowej, poprzez m.in. pomiar morfologii, gazometrii, analizę parametrów biochemicznych krwi, badania histologiczne (procedura 1 i 2– czynności 1-3).

Wyniki uzyskane w ramach realizacji projektu pozwolą na charakterystykę molekularnych zmian zachodzących na poziomie komórek i tkanek oraz poznanie sieci zależności, komunikacji i mechanizmów adaptacji systemowych, co daje duże możliwości na przyszłość do wskazania potencjalnych celów terapeutycznych dla selektywnych leków. Co więcej, uzyskane rezultaty pozwolą poszerzyć wiedzę na temat kluczowych mediatorów, m.in. stanu zapalnego, aktywnych w trakcie rozwoju endotoksemii u myszy starzejących się. Projekt, poza aspektami poznawczymi, ma również duże znaczenie metodyczne, poprzez zastosowanie innowacyjnej metody proteomiki celowanej, pozwalającej na jednoczesne oznaczenia wielu białek.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

240 myszy domowych (*Mus musculus*)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Zwierzęta będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku, a metody badawcze zastosowane w procedurach zostały wybrane tak, aby ograniczały do minimum albo eliminowały ból, cierpienie, stres lub możliwość trwałego uszkodzenia organizmu tych zwierząt.

Zastosowanie zasad zastąpienia:

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

Istniejący stan wiedzy pozwala na wyciągnięcie wniosku, że pomimo znacznego postępu w badaniach biomedycznych, wciąż brak jest skutecznej terapii sepsy. Fenomen ten jest związany z zawiłą i różnorodną odpowiedzią układu immunologicznego, co uniemożliwia wykonanie tego typu eksperymentów na liniach komórkowych i hodowlanych, które m.in. nie są w stanie uwzględnić komunikacji międzykomórkowej i między narządowej. Pełna ocena zmian zachodzących w organizmie pod wpływem endotoksemii możliwa jest tylko z wykorzystaniem zwierząt doświadczalnych, co najprecyzyjniej odzwierciedla warunki fizjologiczne. Procedury wybrane w planowanym doświadczeniu, według aktualnego stanu wiedzy są najmniej dotkliwe dla zwierząt. W przypadku pojawienia się alternatywnych procedur (zadowalających pod względem naukowym) o mniejszej dotkliwości dla zwierząt, zastąpią one procedury zaplanowane w badaniu, z zastrzeżeniem, że nie będzie to miało wpływu na jakość uzyskanych dotychczas wyników.

Zastosowanie zasad ograniczenia:

Liczba zwierząt jest uwarunkowana złożonymi procedurami badań proteomicznych i koniecznością otrzymania wiarygodnych statystycznie wyników. Liczebność badanych grup zwierząt zostanie zmniejszona, o ile częściowe wyniki, uzyskane w trakcie doświadczenia z mniejszej liczby badanych zwierząt, pozwolą na wyciągnięcie wiarygodnych wniosków naukowych (uzyskana zostanie zadowalająca istotność statystyczna). Brak jest danych dotyczących dynamiki zmian rozwoju dysfunkcji śródbłonna w toku rozwoju sepsy w szczególności u osób starszych, co znacznie utrudnia dobór skutecznej terapii.

Zastosowanie zasad udoskonalenia:

W celu ograniczenia stresu zwierzęta uwzględnione w eksperymencie będą uśmiercane pojedynczo (podanie ketaminy z ksylazyną), w osobnym, przeznaczonym do tego celu pomieszczeniu. W celu udoskonalenia warunków bytowych zwierząt podczas prowadzonego eksperymentu oprócz optymalnych parametrów wymiany powietrza, temperatury i wilgotności, każda z klatek dla zwierząt zostanie uzupełniona o drewniane tunele do zabawy oraz drewniane gryzaki do ścierania zębów myszy, które po części odzwierciedlają warunki panujące w przyrodzie tak, aby maksymalnie obniżyć poziom stresu. W przypadku zachorowania, bólu, zranienia zapewniona będzie właściwa opieka, możliwie szybka diagnoza oraz skuteczne leczenie. Dołożone zostaną wszelkie starania, aby odczucie strachu i stresu wyeliminować do minimum. Wszystkie zwierzęta włączone do doświadczenia zostaną uśmiercone bez

odzyskania przytomności.

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.