

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

Tytuł projektu: Wpływ hamowania jądrowego czynnika transkrypcyjnego κ B oraz blokady interakcji RANK-L/RANK na wybrane komórki immunokompetentne w przebiegu doświadczalnej astmy alergicznej.

1.Czas trwania projektu .. 01.04.2017 – 30.06.2018.....

2.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) astma, immunologia, limfocyty T, NF- κ B, RANK-L

3.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.

Cel badań: Badania podstawowe

Rodzaj badań podstawowych: kategoria obejmująca wiele układów (k)

Opis badań: Stale poszukuje się nowych leków do terapii astmy, a szczególnie postaci opornych na leczenie glikokortykosteroidami. Bardzo dobrze rokującymi kandydatami na tego typu leki są substancje hamujące aktywację jądrowego czynnika transkrypcyjnego κ B (NF- κ B) za pośrednictwem blokady kinazy inhibitora NF- κ B tj. BMS-345541, bądź przeciwdziałania translokacji NF- κ B do jądra komórkowego tj. DHMEQ. Proponowane badania naświetlają kwestię udziału limfocytów T w wywołaniu przeciwastmatycznego działania związanego z hamowaniem aktywacji NF- κ B za pośrednictwem w/w mechanizmów. Ta część projektu ma głównie charakter poznawczy, ale również pewien potencjał aplikacyjny, gdyż ujawnianie mechanizmów, za pośrednictwem których wywierane są efekty lecznicze pokazuje nowe możliwości terapeutyczne w leczeniu astmy. Druga część projektu dotyczy oceny wpływu blokady interakcji RANK-L/RANK (ligand RANK/receptor aktywujący NF- κ B) na wybrane komórki immunokompetentne w przebiegu

doświadczalnej astmy alergicznej. Ta część projektu ma charakter nowatorski, gdyż będą to pierwsze badania nad oceną blokady oddziaływania między RANK-L a RANK jako potencjalnego celu terapeutycznego w leczeniu astmy. Zweryfikowanie hipotezy odpowie na pytanie, czy substancja blokująca tę interakcję będzie mogła stanowić prototyp nowego leku przeciastmatycznego.

Badania zostaną przeprowadzone na 6-tygodniowych myszach Balb/c. W celu wywołania modelu astmy alergicznej zwierzęta będą immunizowane owalbuminą [uczulenie: 2 iniekcje dootrzewnowe (czynność 1); dawki prowokacyjne: 5 podań donosowych (czynność 2)]; pierwsza grupa kontrolna otrzyma placebo (czynność 1 i 2). Na 2 dni przed pierwszą dawką prowokacyjną owalbuminy będą podawane badane substancje co 24 godz. przez 7 dni drogą iniekcji dootrzewnowej (czynność 3). Wszystkie iniekcje będą wykonane w znieczuleniu wziewnym. Po eutanazji (czynność 5) zwierząt pobrane zostaną węzły chłonne śródpiersiowe i płuca do badania histopatologicznego i cytometrycznego.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniu zaplanowano wykorzystanie 192 sztuk 6-tygodniowych myszy BALB/c płci żeńskiej

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam/sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: EBSCO; PUBMED; Google Scholar; AGRICOLA; ScienceDirect; Web of Science (JCR); HighWire; Springer; Wiley Online Library; DeGruetyr (Versita)

Wykorzystałem słowa kluczowe: asthma, NF-κB, IKK, BMS-345541, DHMEQ, RANK-L, OPG, regulatory ceels, effector cells, IL-10, Th2 cells, Th17 cells

Na podstawie przeglądu istniejącej literatury, stwierdzam że:

Zasada zastąpienia: Planowane badania stanowią alternatywę dla badań na człowieku lub zwierzętach towarzyszących i gospodarczych. Mysi model astmy powiela wiele cech astmy występującej u ludzi, w tym nadreaktywność i zapalenie dróg oddechowych. Ponadto, ze względu na dużą liczbę osobników potrzebnych do przeprowadzenia doświadczenia, mysz jest optymalnym zwierzęciem laboratoryjnym ze względu na rozmiar, niską cenę, łatwość w postępowaniu i duży współczynnik reprodukcji.

Zasada ograniczenia: Dotychczasowy stan wiedzy na temat tego typu badań pozwala na stwierdzenie, że wybór metod badawczych jest adekwatny do osiągnięcia zamierzonego celu i umożliwia otrzymanie wiarygodnych ze statystycznego punktu widzenia wyników. Należy wyjaśnić, że warunkiem przyjęcia do druku pracy naukowej prezentującej wyniki tego typu badań do czasopisma o zasięgu światowym (tj. z indeksowanego w bazie JCR) jest ich uzyskanie w co najmniej dwóch niezależnych eksperymentach (powtarzalność wyników), z których każdy obejmuje minimum 4 zwierzęta. W świetle tego w niniejszym projekcie zastosowano taką właśnie liczbę zwierząt, tak więc liczba tak jest ograniczona do minimum i dalsze

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

ograniczenia liczebności osobników w grupie uniemożliwiłoby otrzymanie wiarygodnych wyników. W efekcie doprowadziłoby do niepowodzenia doświadczenia (niska wiarygodność uzyskanych wyników; brak szans na opublikowanie wyników w czasopiśmie o zasięgu światowym), a tym samym naraziłoby zwierzęta na niepotrzebne i bezzasadne ich użycie.

Zasada udoskonalenia: Część projektu dotycząca hamowania NF- κ B ma przede wszystkim charakter poznawczy, ale również pewien potencjał aplikacyjny, gdyż ujawnianie mechanizmów, za pośrednictwem których wywierane są efekty lecznicze często pokazuje/otwiera nowe możliwości terapeutyczne. Druga część projektu dot. blokady interakcji RANK-L/RANK ma charakter w pełni nowatorski, gdyż według wiedzy autora byłyby to pierwsze badania nad oceną blokady oddziaływania między RANK-L a RANK jako potencjalnego celu terapeutycznego w leczeniu astmy. Zweryfikowanie hipotezy w tym zakresie nie tylko odpowie na pytanie, czy blokada tej interakcji może przynosić korzyści terapeutyczne w leczeniu astmy alergicznej, ale dodatkowo rzuci światło na kwestię udziału szlaku osteoprotegeryna/RANK-L/RANK w patogenezie tej choroby. Wykorzystywane w doświadczeniu zwierzęta będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku, a metody badawcze zastosowane w procedurach zostały wybrane tak, aby ograniczały do minimum albo całkowicie eliminowały cierpienie i stres. Ponadto proponowana w doświadczeniu metoda analityczna jaką jest cytometria przepływowa jest jedną z najnowocześniejszych metod pozwalającą ocenić zarówno jakościowo, jak i ilościowo właściwości fizyczne i biologiczne komórek oraz niektórych ich komponentów. Metoda ta jest szeroko wykorzystywana przez wiodące ośrodki naukowe jak również medyczne na całym świecie.