

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „**Rola białka MCPIP1 w niealkoholowej stłuszczeniowej chorobie wątroby**”

2. Czas trwania projektu 27.03 2017 – 1.10.2021

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): MCPIP1, wątroba, stan zapalny, Zc3h12a, NAFLD

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): 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.

Celem naukowym doświadczenia jest zbadanie czy białko MCPIP1 jest zaangażowane w rozwój i progresję niealkoholowej stłuszczeniowej choroby wątroby (NAFLD). Choroba ta jest jednym z najczęstszych schorzeń wątroby wśród osób z krajów wysokorozwiniętych. Szacuje się, że na tą chorobę cierpi obecnie ponad miliard osób na świecie. Przejawem NAFLD jest nadmierna akumulacja triglicerydów w obrębie hepatocytów, co u części pacjentów prowadzi do rozwoju chronicznego stanu zapalnego w wątrobie, a następnie zwłóknienia i marskości wątroby. Gen *ZC3H12A*, koduje białko MCPIP1, które jest negatywnym regulatorem stanu zapalnego. Mechanizm działania MCPIP1 opiera się na właściwościach RNazy i polega na degradacji mRNA cytokin prozapalnych. MCPIP1 jest także negatywnym regulatorem czynników transkrypcyjnych NF- κ B i AP-1. Wykazano także rolę tego białka w metabolizmie lipidów. Badania naszego zespołu dowiodły iż MCPIP1 hamuje różnicowanie preadipocytów, poprzez degradację mRNA C/EBP β , ważnego regulatora adipogenezy. Zaobserwowaliśmy także indukcję MCPIP1 w komórkowym modelu NAFLD, jednakże aby zbadać rolę tego białka w stłuszczeniu wątroby, najbardziej odpowiednie byłoby zastosowanie zwierzęcych modeli tej choroby. Dzięki przeprowadzeniu badań u myszy będziemy mogli uzyskać pełny obraz funkcji białka MCPIP1 w trakcie rozwoju tej choroby. Nie przewidujemy występowania skutków ubocznych u myszy, jednak dieta wysokotłuszczowa doprowadzi do zwiększenia ich masy ciała.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W projekcie wykorzystane zostaną następujące zwierzęta:

Gatunek: *Mus musculus*; Szczep: C57BL/6J; Linia: dzika i transgeniczna:

- linia dzika - myszy C57BL/6J – zwierzęta kontrolne;

- linia transgeniczna - myszy zawierające sekwencje LoxP w genie *Zc3h12a* kodującym białko Mcpip1 (*Zc3h12a*^{LoxP/LoxP});

- linia transgeniczna - myszy Alb-Cre^{TG/WT} *Zc3h12a*^{LoxP/LoxP} pozbawione ekspresji genu *Zc3h12a* w hepatocytach (rekombinaza Cre pod promotorem albuminy);

- linia transgeniczna - myszy LysM-Cre^{TG/WT} *Zc3h12a*^{LoxP/LoxP} pozbawione ekspresji genu *Zc3h12a* w leukocytach linii mieloidalnej (rekombinaza Cre pod promotorem Lizozymu M).

Zwierzęta podzielono na następujące grupy:

Nazwa Grupy	Rodzaj grupy	Szczep/typ myszy	Liczba zwierząt
1	Kontrolna; myszy typu dzikiego karmione paszą kontrolną (AIN)	C57BL/6J	10
2	Doświadczalna: myszy typu dzikiego karmione paszą wysokotłuszczową (HFD)	C57BL/6J	10
3	Kontrolna: myszy transgeniczne, pasza AIN	<i>Zc3h12a</i> ^{LoxP/LoxP}	10
4	Doświadczalna: myszy transgeniczne, pasza HFD	<i>Zc3h12a</i> ^{LoxP/LoxP}	10
5	Kontrolna: myszy transgeniczne, pasza AIN	Alb-Cre ^{TG/WT} <i>Zc3h12a</i> ^{LoxP/LoxP}	10
6	Doświadczalna: myszy transgeniczne, pasza HFD	Alb-Cre ^{TG/WT} <i>Zc3h12a</i> ^{LoxP/LoxP}	10
7	Kontrolna: myszy transgeniczne, pasza AIN	LysM-Cre ^{TG/WT} <i>Zc3h12a</i> ^{LoxP/LoxP}	10
8	Doświadczalna: myszy transgeniczne, pasza HFD	LysM-Cre ^{TG/WT} <i>Zc3h12a</i> ^{LoxP/LoxP}	10

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Zastąpienie - Ze względu na charakter doświadczenia które ma na celu pomiar rozwoju NAFLD nie ma możliwości zastąpienia badaniami *in vitro* opisanych procedur. Żadna metoda laboratoryjna nie odda w pełni tego procesu chorobotwórczego, w którym biorą udział, oprócz komórek wątroby (hepatocyty, komórki gwiaździste, komórki Kupfera, komórki śródbłónka, makrofagi wątrobowe, komórki NK, komórki progenitorowe) również adipocyty czy leukocyty z krwi. Badania *in vitro* NAFLD, w których stymulowane kwasami tłuszczowymi są tylko hepatocyty, nie odzwierciedlają prawidłowo mechanizmów rozwoju stłuszczenia wątroby. Dlatego tak ważne jest opracowywanie modeli *in vivo*, które pozwolą lepiej zrozumieć procesy fizjologiczne jak i patofizjologiczne zachodzące w wątrobie. Najlepszym modelem w tym przypadku jest mysz, której wątroba zarówno w budowie jak i fizjologii odpowiada ludzkiej wątrobie. Wykorzystanie zwierząt bezkręgowych nie jest możliwe, ponieważ ich organizm jest znacząco odmienny od organizmu ssaków. W związku z tym, zastąpienie zwierząt kręgowych w poniższym projekcie zwierzętami bezkręgowymi nie jest możliwe.

Ograniczenie- Liczebność grup została zminimalizowana do 10 osobników na grupę poprzez zmniejszenie zmienności w ich obrębie. Wszystkie zwierzęta będą pochodziły z hodowli wsobnej prowadzonej w Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ, dzięki czemu ograniczymy zmienność genetyczną. Użyta liczba zwierząt pozwoli nam na uzyskanie zdecydowanie bardziej wiarygodnych wyników.

Udoskonalenie- Zwierzętom zostanie zapewniony odpowiedni czas na aklimatyzację, a także stabilne środowisko (wilgotność, temperatura, odpowiednia pasza). W trakcie trwania eksperymentu zwierzęta nie powinny być narażone na dodatkowy dystres, ponieważ wymiana paszy eksperymentalnej będzie wykonywana tak jak w przypadku normalnie wykorzystywanej paszy hodowlanej. W pojedynczej klatce hodowanych będzie 5 osobników by uniknąć długotrwałego dystresu związanego z możliwym przegęszczeniem.

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