

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Protekcyjny wpływ białka Klotho na kardiomiocyty uszkodzone w wyniku ostrego niedokrwienia i reperfuzji - badania na modelu zwierzęcym *ex vivo*

2. Czas trwania projektu 01.02.2020 - 31.01.2023

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) białko Klotho, niedokrwienie/reperfuzja, kardioprotekcja

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.

Standardową terapią stosowaną w leczeniu zawału serca jest leczenie reperfuzyjne, polegające na jak najszybszym przywróceniu przepływu przez zamkniętą tętnicę wieńcową. Niestety, przywrócenie przepływu krwi do niedokrwionego mięśnia sercowego może powodować dodatkowe uszkodzenie – uszkodzenie niedokrwienno/reperfuzyjne (I/R). Białko Klotho zostało odkryte w 1997 r. u myszy. Zwierzęta, u których stwierdzono niedobór białka Klotho żyły krócej, były bezpłodne i częściej zapadały na choroby związane z wiekiem. Wykazano, iż niedobór białka Klotho ma związek z chorobami sercowo-naczyniowymi. Naukowcy potwierdzili również antyoksydacyjne i ochronne działanie białka Klotho.

Celem naukowym doświadczeń jest identyfikacja roli i znaczenia białka Klotho oraz identyfikacja przydatności białka Klotho jako potencjalnego czynnika kardioprotekcyjnego podczas uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego serca.

Przedmiotem badań będzie:

1. Ocena zmian ekspresji i uwalniania białka Klotho przez tkankę sercową podczas uszkodzenia niedokrwienno/reperfuzyjnego,

2. Ocena wpływu podaży białka Klotho na produkcję reaktywnych form tlenu i azotu, aktywność metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej oraz degradację białek kurczliwych podczas uszkodzenia niedokrwienno/reperfuzyjnego serca.

Przypuszczamy, iż białko Klotho może ulegać wysokiej ekspresji w tkance serca podczas uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego i przyczynia się do mechanizmu kompensacyjnego. Przypuszczamy również, że podanie białka Klotho może zapobiec uszkodzeniu kardiomiocytów lub zmniejszyć obszar niedokrwiennych zmian mięśnia sercowego. Sugerujemy, że białko Klotho może być cenne zarówno jako marker uszkodzenia, jak i potencjalny czynnik kardioprotekcyjny.

Wyniki naszych badań mogą mieć szczególne znaczenie w dziedzinie kardiologii, dając szansę na nową strategię zapobiegania i leczenia niedokrwiennych uszkodzeń serca. Niniejsze badania mogą odpowiedzieć na pytanie czy białko Klotho mogłoby być nowym czynnikiem terapeutycznym w zawale mięśnia sercowego.

## 6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Całkowita liczba szczurów szczepu Wistar, samców o wadze 200-350g, we wszystkich eksperymentach wynosi 50.

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA<sup>1</sup>

W doświadczeniach na zwierzętach uwzględniona zostanie zasada (3R):

**ZASTĄPIENIA** (Zaplanowanie doświadczenia z wykorzystaniem serc szczurzych, wynika z braku alternatywnej metody badawczej oraz modelu doświadczalnego - brak modelu sztucznego serca ludzkiego), **OGRANICZENIA** (Liczba wykorzystywanych w doświadczeniu zwierząt zostanie ograniczona do poziomu niezbędnego do osiągnięcia celów. W celu przeprowadzenia prawidłowej i wiarygodnej analizy statystycznej planujemy zastosowanie 9-12 szczurów w jednej grupie badanej. Wielkość grup wyliczona została na podstawie analizy mocy testu, z uwzględnieniem: wysokiej mocy testu=0,8 oraz istotności statystycznej  $p=0,05$ )

**UDOSKONALENIA** (Mając na uwadze redukcję stresu zwierząt do minimum, szczury będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku i zapewniających dobrostan oraz najlepszy standard życia. Środowisko bytowania wzbogacone zostanie o drewniane gryzaki osinowe. W jednej klatce znajdować się będą 2 osobniki. W celu minimalizacji stresu związanego z czynnościami procedury doświadczalnej i przyzwyczajenia do obsługi, czynności pielęgnacyjnych i ważenia zostanie

<sup>1</sup> Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

zastosowany minimum tygodniowy handling. W celu złagodzenia dotkliwości procedury oraz mając na uwadze ograniczenie do minimum ból, cierpienie oraz dystres zwierząt w doświadczeniu, nieinwazyjne czynności wykonywane są bez znieczulenia z uwagi na fakt, iż podanie znieczulenia było by znacznie bardziej inwazyjną czynnością, narażającą zwierzę na ból związany z wprowadzeniem igły. Natomiast izolacja nerki zostanie przeprowadzona po uśpieniu i znieczuleniu zwierząt. Warunki doświadczenia (dawki leków znieczulających, usypiających) zostaną dostosowane do wytycznych dla danego gatunku. Procedury wykonywane będą przez wykwalifikowany personel, stale podnoszący kwalifikacje i doskonalący swoje umiejętności, w celu eliminowania błędów podczas wykonywania procedury izolacji serc szczurzych do dalszych badań (szkolenia w kraju i zagranicą).

Biorąc pod uwagę wyniki naszych badań na linii komórkowej ludzkich kardiomiocytów, planujemy zbadać wpływ Klotho i mechanizm kardioprotekcji na poziomie tkankowym. Dlatego też, celem wykorzystania zwierząt jest analiza kardioprotekcyjnego wpływu białka Klotho na modelu izolowanego serca szczurzego w badaniach *ex vivo*. Wyniki naszych badań mogą mieć szczególne znaczenie w dziedzinie kardiologii, otwierając nową strategię zapobiegania i leczenia chorób mięśnia sercowego. Jesteśmy przekonani, że uzyskane wyniki mogą być ważnym krokiem w dalszych badaniach *in vivo* nad kardioprotekcyjną rolą Klotho w sercu uszkodzonym przez niedokrwienie i następczą reperfuzję.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną<sup>2</sup>

- ☐ 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.