

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Zmiany w profilu metabolicznym kardiomiocytów i mięśnia sercowego zachodzące pod wpływem niskich dawek promieniowania jonizującego.

2. Czas trwania projektu: 2 lata

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): promieniowanie, kardiotoksyczność, kardioprotekcja, resweratrol, metabolom

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.

Celem projektu jest przeprowadzenie badań podstawowych, w wyniku których uda się określić czy i jak niskie dawki promieniowania jonizującego zmieniają profil metaboliczny komórek serca. Dodatkowym celem będzie ocena czy zastosowanie resweratrolu może zmniejszyć ryzyko kardiotoksyczności związanej z promieniowaniem jonizującym.

Jednym z efektów ubocznych ekspozycji na promieniowanie jonizujące jest zwiększone ryzyko rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego (tzw. kardiotoksyczność). W związku ze wzrastającym ryzykiem narażenia na niskie dawki promieniowania – m.in. ze źródeł medycznych, jak np. radioterapia nowotworów – poznanie mechanizmów ich toksyczności umożliwiłoby opracowanie metod wykrywania i przeciwdziałania uszkodzeniom serca wywołanym przez promieniowanie. Wiadomo również, że resweratrol, naturalnie występujący związek, wykazuje działanie ochronne m.in. w przypadku uszkodzenia serca przez antracykliny czy szpiku kostnego wywołane promieniowaniem jonizującym.

Niestety nie ma dostępnych doniesień dotyczących działania resweratrolu w kontekście kardiotoksyczności promieniowania, szczególnie będącej efektem niskich dawek.

Myszom wykorzystanym przy badaniach podany będzie resweratrol (w dawce 0, 5 lub 25 mg/kg) i/lub będą one jednorazowo napromieniane niskimi dawkami promieniowania jonizującego (dawkami 0, 0.2 lub 2 Gy). Po 20 tygodniach obserwacji zwierzęta zostaną humanitarnie uśmiercone, następnie zostaną pobrane próbki do badań. Analizowane będą serca myszy oraz surowica krwi. Analiza serc oraz surowicy krwi pobranych z myszy umożliwi realizację celów proponowanego projektu. Badania profilu metabolicznego przeprowadzone zostaną przy wykorzystaniu technik spektroskopii NMR i pozwolą wskazać metabolity, których poziom zmienia się na skutek ekspozycji serca na promieniowanie. Lepsze poznanie wpływu niskich dawek promieniowania na serce umożliwi opracowanie terapii osłonowych zmniejszających skutki uboczne radioterapii onkologicznej i poprawiającej jakość życia pacjenta po zakończeniu leczenia.

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

W doświadczeniu wykorzystane zostaną myszy rasy C57BL/6NCrL. Będą one podzielone na 9 grup badawczych w zależności od otrzymanej dawki promieniowania jonizującego (0, 0.2 lub 2 Gy) i/lub resweratrolu (0, 5 lub 25 mg/kg). W każdej grupie będzie 5 zwierząt, co umożliwi uzyskanie istotnych statystycznie wyników i w sumie da 45 myszy na całe doświadczenie.

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

We współczesnym świecie wzrasta ryzyko narażenia na niskie dawki promieniowania jonizującego, zarówno ze źródeł medycznych jak i środowiskowych. O ile istnieje konsensus odnośnie szkodliwości wysokich dawek promieniowania, to poglądy na temat negatywnego wpływu niskich dawek są zróżnicowane – część uczonych uważa nawet, że nieduże dawki promieniowania mogą być prozdrowotne. Jednak długoletnie obserwacje osób narażonych na niskie dawki promieniowania jonizującego pokazują, że narażenie to zauważalnie zwiększa ryzyko zachorowań i umieralność na choroby układu sercowo-naczyniowego. Głównym medycznym źródłem promieniowania jest radioterapia nowotworów. Pacjenci poddani radioterapii często cierpią z powodu kardiologicznych efektów ubocznych promieniowania, które rozwijają się wiele lat po zakończeniu leczenia, mimo tego, że w terapii używa się niskich dawek, minimalizujących ryzyko rozwoju negatywnych efektów ubocznych (ok. 2 Gy na jednorazową dawkę). W obecnej chwili nie jest znany dokładny mechanizm

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

działania niskich dawek promieniowania jonizującego na komórki serca, jednak odpowiedzi na to pytanie mogłaby dostarczyć analiza zmian zachodzących w metabolomie komórek serca.

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym w bazach danych: PUBMED oraz Google Scholar. Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzono że brak jest dostępnych danych dotyczących wpływu niskich dawek promieniowania jonizującego na zmiany obserwowane w profilu metabolicznym serca oraz krwi. Brak jest również danych dotyczących ochronnego działania resweratrolu na serce w kontekście promieniowania (zarówno w niskich, jak i w wyższych dawkach). Wyniki z proponowanego projektu pozwolą na rozwinięcie istniejącej wiedzy w kierunku poznania mechanizmów indukowania kardiotoxyczności niskich dawek promieniowania jonizującego (istotne w kontekście zwiększającego się narażenia ze źródeł zarówno medycznych jak i naturalnych) oraz uzyskania informacji, czy zastosowanie resweratrolu jako naturalnego środka obecnego w diecie może zmniejszyć lub całkowicie zapobiec zmianom indukowanym przez promieniowanie.

Przygotowując doświadczenie uwzględniono zasadę zastąpienia, ograniczenia i udoskonalenia (3R):

1) Badania wstępne dotyczące tematu szkodliwości niskich dawek promieniowania oraz potencjalnego ochronnego działania resweratrolu zostały dotychczas przeprowadzone na komórkach *in vitro*. Ze względu jednak na złożoność żywego organizmu oraz interakcji między układami i organami, badania w układzie *in vitro* dostarczają niepełnej, może nawet odmiennej informacji na temat wpływu promieniowania na serce. Ponieważ celem projektu jest znalezienie markerów umożliwiających wczesne wykrycie uszkodzenia serca na skutek działania niskich dawek promieniowania jonizującego oraz ocena czy zastosowanie resweratrolu jest zdolne zmniejszyć ryzyko wystąpienia tych uszkodzeń, niezbędne staje się wykorzystanie modelu zwierzęcego, przy czym model badawczy wykorzystujący myszy jest najczęściej wykorzystywanym i najlepiej poznanym modelem w tego rodzaju badaniach.

2) Eksperyment przewiduje przygotowanie 9 grup badawczych w zależności od dawki promieniowania oraz resweratrolu i ich kombinacji. Do każdej grupy przewidziano włączenie 5 myszy (co daje w sumie 45 myszy) tak, aby ograniczyć liczbę zwierząt w grupie, a jednocześnie aby uzyskane wyniki można było analizować pod kątem ich istotności statystycznej.

3) Zwierzęta wykorzystane w doświadczeniu utrzymywane będą w warunkach odpowiednich dla ich gatunku, a metoda badawcza została wybrana tak, bo do minimum ograniczyć jej wpływ na zwierzęta. Myszy utrzymywane będą w wentylowanych klatkach, w odpowiedniej dla nich temperaturze i wilgotności, ich stan będzie również nieustannie monitorowany przez wykwalifikowany personel. W klatkach przebywać będzie po 5 zwierząt (nie będą odizolowane), z dostępem do świeżej wody i specjalistycznej paszy. W razie wystąpienia jakichkolwiek dolegliwości mysz zostanie odseparowana od pozostałych zwierząt i poddana obserwacji, a po ich ustąpieniu wróci do swojej klatki. Myszy będą miały również zróżnicowane środowisko: prócz podstawowej, niepyłacej, chłonnej osikowej ściółki (zapewniającej także higieniczne warunki), w klatkach będzie ściółka przeznaczona do budowy gniazd, poprawiająca komfort bytowania zwierząt. Podczas procedury napromieniania stan myszy będzie nieustannie monitorowany, będą również owijane w ligninę w celu zminimalizowania utraty ciepła.

Dawka promieniowania, jaką otrzymają myszy będzie zbliżona (lub niższa) do tej, jaką otrzymują pacjenci podczas radioterapii nowotworów, więc wg naszej obecnej wiedzy dawki te nie powinny mieć znaczącego negatywnego wpływu na komfort życia zwierząt.