

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Protekcyny wpływ MMP-2 siRNA na kardiomiocyty uszkodzone w wyniku ostrego niedokrwienia i reperfuzji - badania na modelu zwierzęcym ex vivo**

2. Czas trwania projektu 01.12.2020-31.12.2021

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) niedokrwienie/niedotlenienie; reperfuzja/reoksygenacja; kardiomiocyty; MMP-2; siRNA

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.

U zwierząt wykonana zostanie procedura wywołania lokalnego niedokrwienia poprzez wycięcie serca i poddanie go perfuzji zewnątrzustrojowej z wywołaniem niedokrwienia. Celem naukowym doświadczeń jest zbadanie czy farmakologiczna redukcja wzmożonej aktywności metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowych MMP-2, przy pomocy siRNA ochroni serce przed uszkodzeniem w wyniku I/R.

W celu swobodnego zredukowania aktywności MMP-2 podamy zwierzętom MMP-2 siRNA dostępne komercyjnie siRNA w celu wyciszenia ekspresji MMP-2 w mieszaninie z siPORT w celu transfekcji MMP-2 siRNA do komórek.

Celem naukowym doświadczeń jest identyfikacja roli i znaczenia siRNA jako potencjalnego czynnika kardioprotekcyjnego podczas uszkodzenia niedokrwienno-reperfuzyjnego serca oraz wykrycie molekularnych mechanizmów leżących u podstaw uszkodzenia niedokrwienno reperfuzyjnego serca.

Uzyskane wyniki będą stanowić podstawę do wprowadzenia inhibitora do protokołu prewencji/leczenia uszkodzeń serca w wyniku I/R. Proponowana strategia leczenia/prewencji uszkodzeń tkanki sercowej w wyniku I/R wpłynie również na skrócenie okresu rekonwalescencji i poprawę jakości życia osób po zawale a także, stworzy możliwość ochrony serca dawcy przed uszkodzeniem podczas przygotowywania i transportu organu do przeszczepienia.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Zaplanowano wykorzystanie 36 szczurów, samców rasy Wistar (WI) WU Cmd o masie 200-350g

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Uwzględnienie zasady zastąpienia:

Zaplanowanie doświadczenia z wykorzystaniem serc szczurzych (36 szczurów, samców Wistar o masie 200-350g), wynika z braku alternatywnej metody badawczej oraz modelu doświadczalnego - brak modelu sztucznego serca ludzkiego. Obecnie zastosowanie modeli zwierzęcych w celu prowadzenia badań nad ostrym niedokrwieniem mięśnia sercowego w różnych aspektach odgrywa kluczową rolę w badaniach nad nowoczesnymi sposobami prewencji, diagnozy oraz terapii zawału serca u ludzi.

Uwzględnienie zasady ograniczenia:

W projekcie przewidziano jeden eksperyment, w których zostanie wykorzystanych 36 szczurów, samców Wistar o masie 200-350g (postępowanie wg procedury 1, kategoria dotkliwości: terminalna, bez odzyskania przytomności).

Liczba zwierząt wykorzystywanych w doświadczeniu została ograniczona do poziomu niezbędnego do osiągnięcia celów projektu. Uwzględniając przeprowadzenie prawidłowej i wiarygodnej analizy statystycznej planujemy zastosowanie 6-9 szczurów w jednej grupie badanej (test t-Studenta, jednoczynnikowa analiza wariancji one-way ANOVA, testy post-hoc Newmana i Keulsa). Pragniemy również zwrócić uwagę, iż liczba szczurów niezbędnych do przeprowadzenia niniejszych doświadczeń stanowi wartość powiększoną o 10% ponieważ z doświadczenia wiadomo, iż u części szczurów poddanych procedurze I/R dochodzi do arytmii, przez co serce takiego zwierzęcia nie może być wykorzystane w dalszych badaniach - stąd całkowita liczba zwierząt wynosi 36.

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

Uwzględnienie zasady udoskonalenia:

W trakcie czasu oczekiwania na doświadczenie, zwierzęta będą przetrzymywane w klatkach wyścielonych trocinami, wyposażonych w poidelka z wodą oraz suchą karmą. W jednej klatce znajdować się będą max. 2 osobniki. Szczury będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku i zapewniających dobrostan: w suchym i cichym pomieszczeniu bez okien, z sztucznym oświetleniem, zabezpieczonym przed dostaniem się owadów, wyposażonym w sprawny, ciągły system wentylacyjny, o stałej temperaturze powietrza 20-22 °C, z wilgotnością powietrza 40-45%.

Wymiary klatki w których przetrzymywane będą zwierzęta: powierzchnia podłogi 820 cm², wysokość 18 cm. Środowisko bytowania wzbogacone zostanie o drewniane gryzaki osinowe.

Mając na uwadze ograniczenie do minimum ból, cierpienie oraz dystres zwierząt w doświadczeniu, czynności: transportu oraz ważenia zwierząt opisane w procedurze nr 1 i 2 wykonywane zostaną bez znieczulenia z uwagi na fakt, iż podanie znieczulenia było by znacznie bardziej inwazyjną czynnością, narażającą zwierzę na ból związany z wprowadzeniem igły. Czynność ekstrakcja serca, opisana w procedurze 1 oraz czynność wywołania globalnego niedokrwienia lub lokalnego niedokrwienia z następczą reperfuzją zostanie przeprowadzona po uśpieniu i znieczuleniu zwierząt.

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.