

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

Tytuł projektu

Zwężenie tętnicy szyjnej jako przyczyna udaru mózgu. Czy ograniczenie kalorii czy przerywany post jako aktywator sirtuiny (SIRT1) poprzez zmianę mikroflory jelitowej zapewniają ochronę rozwijających się chorób niedokrwienych serca? Czy sirtuina jest nowym potencjalnym celem terapeutycznym w zapobieganiu udarowi mózgu?

1. Czas trwania projektu 27 miesięcy

2. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) miażdżyca, udar, restrykcje kaloryczne, przerywany post

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.

W planowanym eksperymencie celem doświadczenia będzie określenie wpływu CR i IF jako aktywatora sirtuiny (SIRT1) poprzez zmianę mikroflory jelitowej i zwężenia tętnicy szyjnej wspólnej (CCA) jako przyczyny udaru mózgu. Dodatkowo planowana jest ocena wpływu CR i IF na zwężenie tętnicy szyjnej wspólnej jako przyczyny udaru mózgu.

4-miesięczne myszy ApoE/LDLR^{-/-} będą poddawane restrykcjom kalorycznym tj. **CR** (obniżenie o 30% podawanego pożywienia w stosunku do spożytego przez grupę kontrolną -C) lub przerywanego postu tj. **IF** (naprzemiennie dni żywienia *ad libitum* z dniami, gdy dostępna jest tylko woda) przez 8 tygodni. Wszystkie grupy (C, CR, IF) otrzymają dietę opartą na AIN-93. Zwierzęta otrzymają stały dostęp do wody.

W ostatnim etapie badań zwierzęta zostaną uśpione i następnie zostaną pobrane narządy.

W przeprowadzonym doświadczeniu zostaną wykorzystane nowoczesne i uznane metody, w tym analiza wspólnej tętnicy szyjnej (CCA) oraz analiza mikroflory jelitowej. Ekspresja genów sirtuin i stanów zapalnych zostanie przeanalizowana za pomocą PCR w czasie rzeczywistym.

Znaczenie aspektu poznawczego projektu oceniającego stopień zwężenia CCA pod wpływem ograniczeń żywieniowych, a tym samym w walce z udarem, jest obiecujące. Dodatkowo niezwykle ważne jest zrozumienie mechanizmów leżących u podstaw profilaktyki udaru mózgu za pomocą CR/IF, które może przyczynić się do poprawy zdrowia populacji w przyszłości, szczególnie w kontekście chorób sercowo-naczyniowych, jednych z głównych przyczyn zgonów na świecie. Wyniki projektu mogą stać się argumentem w dyskusji na temat modyfikacji zaleceń dietetycznych w celu uzyskania nowej strategii w walce z CVD takim jak choroba wieńcowa, zawał serca i udar mózgu.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mysz domowa ApoE/LDLR^{-/-}, trzydzieści (n=30) myszy (samce)

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

W czasie planowania eksperymentu dokonano przeglądu literatury dotyczącej tematyki wpływu CR oraz IF na organizm zwierzęcia oraz człowieka (bazy danych: PUBMED, Google Scholar, Web of Science, Science Direct, EBSCO, AGRICOLA). Wykorzystano następujące słowa kluczowe: miażdżyca, CR, IF, udar, mysz model miażdżycy.

Na podstawie analizy literatury stwierdzono, iż dotychczas nie przeprowadzono kompleksowych badań dotyczących wpływu CR i IF jako aktywatora sirtuiny (SIRT1) poprzez zmianę mikroflory jelitowej i zwężenia tętnicy szyjnej wspólnej (CCA) jako przyczyny udaru mózgu.

Uwzględniając **zasadę zastąpienia** zdecydowano o wykorzystaniu myszy ApoE/LDLr^{-/-} w planowanych badaniach jako najlepszego i najbardziej wiarygodnego zwierzęcego modelu miażdżycy. Model badania *in vivo* nie może zostać zastąpiony przez techniki *in vitro*, gdyż zapewnia on możliwość badania skomplikowanych mechanizmów zachodzących w organizmie żywym. Według dostępnej obecnie wiedzy niemożliwe jest wykorzystanie do tego zwierząt o niższym stopniu rozwoju.

Liczba zwierząt planowanych do użycia w doświadczeniu została określona na podstawie znajomości odchylenia standardowego wybranych parametrów, które zostało oszacowane na podstawie poprzednich doświadczeń oraz danych literaturowych. Wykorzystanie takiej liczby zwierząt ma na celu zminimalizowanie wpływu zmienności międzyosobniczej na wyniki planowanego badania, a także ograniczenie wystąpienia błędu I rodzaju (**zasada ograniczenia**).

Kierując się **zasadą udoskonalenia** doświadczenie zostanie przeprowadzone przez wykwalifikowanych i doświadczonych naukowców, którzy standaryzowali stosowane metody badawcze. Doświadczenie zostanie przeprowadzone w sposób eliminujący lub gdy jest to niemożliwe, obniżający do minimum stres i ból u zwierząt. Pobranie krwi z żyły ogonowej myszy jest najmniej inwazyjną i powszechnie stosowaną metodą pomiaru poziomu glukozy we krwi zwierząt laboratoryjnych. Czynność ta wykonana zostanie w osobnym, wyznaczonym do tego miejscu bezpośrednio przed eutanazją. Uśmiercanie zwierząt laboratoryjnych ketaminą z ksylazyną jest

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

ogólnie znaną i dopuszczoną do stosowania przez ustawodawcę metodą. Na podstawie wieloletniej praktyki wybrano tą metodę uśmiercania. Pozwala ona na prawidłowe pobranie materiału biologicznego niezbędnego do realizowania celu doświadczenia. W celu ograniczenia stresu zwierzęcia planuje się zastosowanie poniższych metod łagodzących, tj. pomiar poziomu glukozy oraz uśmiercanie zwierząt będzie wykonywany pojedynczo, w osobnym, przeznaczonym do tego celu pomieszczeniu. W przekonaniu eksperymentatorów to wszystko sprawia, iż wszystkie zwierzęta w eksperymencie będą miały zapewniony odpowiedni dobrostan przez cały okres trwania badania. W klatkach zostaną użyte elementy wzbogacające środowisko bytowania. Jako wzbogacenie środowiska będzie zastosowany drewniany klocek/ materiał gniazdowy. Będą one wymieniane każdorazowo przy zmianie ściółki lub kiedy będą zniszczone.

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.