

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Czynniki związane ze starzeniem i hipercholesterolemią w rozwoju miażdżycy

2. Czas trwania projektu 5 lat

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) miażdżyca, starzenie, hipercholesterolemia, wirus towarzyszący adenowirusom (AAV), śródbłonek

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.

Choroby układu sercowo-naczyniowego są najczęstszą przyczyną zgonów na świecie. Starzenie istotnie wpływa na zwiększoną zapadalność i nasilenie stanów chorobowych u podłoża których leżą zmiany miażdżycowe. Głównym objawem miażdżycy jest zwiększenie grubości ściany, stwardnienie tętnic i powstawanie blaszek miażdżycowych, co w konsekwencji może doprowadzić do zaburzeń krążenia, choroby wieńcowej, zawału serca czy udaru mózgu. Podstawową rolę w rozwoju miażdżycy przypisuje się postępującej z wiekiem dysfunkcji śródbłonna naczyń oraz hipercholesterolemii.

Badanie czynników warunkujących rozwój chorób układu sercowo-naczyniowego wymaga opracowania odpowiedniego modelu zwierzęcego – najczęściej myszy z hipercholesterolemią. Myszy wykorzystane w eksperymencie staną się hipercholesterolemiczne, dzięki pojedynczej iniekcji dożylną wektora AAV

(ang. adeno-associated viral vectors) serotypu 8 wprowadzającego do komórek wątroby dodatkowe kopie genu konwertazy probiałkowej typu 9 o aktywności subtylizyny/keksyny (Pcsk9) w połączeniu z dietą aterogenną. To podejście pozwala uniknąć kosztownego i czasochłonnego krzyżowania wstecznego, zapewniając jednocześnie powtarzalny i niezawodny wpływ na poziom cholesterolu w surowicy i rozwój blaszki miażdżycowej.

W eksperymencie zostaną wykorzystane myszy z nokautem genu Nrf2 w komórkach śródbłonna (Cdh5-Cre Nrf2^{-/-}) oraz makrofagach (LysM-CreNrf2^{-/-}). Brak tego genu prowadzi do utraty funkcji i starzenia (senescencji) komórek śródbłonna i makrofagów, co odzwierciedla uszkodzenia komórek, które pojawiają się u ludzi z wiekiem.

Celem badań jest określenie mechanizmów regulujących interakcje międzykomórkowe w obrębie naczyń krwionośnych oraz ich znaczenie w starzeniu i rozwoju blaszek miażdżycowych. Ważnym aspektem będzie analiza wpływu niedoboru czynnika Nrf2 w komórkach śródbłonna i makrofagach na procesy nasilające ten stan chorobowy (zwapnienie, zwłóknienie, unaczynienie tętnic). Wyniki przeprowadzonych eksperymentów pozwolą nie tylko zidentyfikować wywołane starzeniem się czynniki chorobotwórcze, ale też zaproponować możliwe terapie przeciwdziałające negatywnym ich skutkom.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniu zaplanowano wykorzystanie 264 myszy domowych.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury stwierdzono, że brak jest dostępnych danych na temat powstawania i postępu zmian miażdżycowych na poziomie molekularnym u osobników młodych i starych z uszkodzonym śródbłonkiem i makrofagami. Uzyskane wyniki mogą posłużyć do poszerzenia wiedzy na temat chorób układu sercowo-naczyniowego i opracowania nowych terapii w walce z miażdżycą i starzeniem naczyń krwionośnych.

Przy wykonywaniu wszystkich procedur na zwierzętach zawsze będzie stosowana zasada 3R (Replacement, Reduction, Refinement), odnosząca się do polepszenia bytu i humanitarnego traktowania zwierząt:

Replacement (zastąpienie): zaplanowane badania nie mogą zostać przeprowadzone poza żywym organizmem. Miażdżycą jest niezwykle złożonym zespołem chorobowym i nie jest możliwe zastąpienie doświadczeń na zwierzętach metodami *in vitro* (hodowle komórkowe, tkankowe). Ze względu na konieczność analizy mechanizmów zachodzących w organizmie żywym stworzono wiele zwierzęcych modeli miażdżycy. W zaproponowanym doświadczeniu myszy są modelowymi zwierzętami najczęściej wykorzystywanymi do tego typu badań. Model myszy jest najlepiej udokumentowanym modelem miażdżycy, dodatkowo stwierdzono, że pod wpływem diety zbliżonej składem do ludzkiej diety typu zachodniego rozwijają one zmiany miażdżycowe o podobnym przebiegu względem ludzi. Nie jest także możliwe zastąpienie myszy zwierzętami o niższym stopniu ewolucyjnym ze względu na odmienną budowę układu sercowo- naczyniowego.

Reduction (ograniczenie): Za liczebność grupy przyjęto najmniejszą liczbę zwierząt, która pozwoli na otrzymanie wyników statystycznie istotnych (na poziomie $\alpha=0,05$). Dodatkowo, gdzie jest to możliwe grupy są ze sobą łączone, co zwiększa ich liczebność; zaplanowano analizy na kilku poziomach – na poziomie organizmu, tkanek oraz na poziomie molekularnym. Kompleksowe podejście do badań pozwala na maksymalizację danych uzyskiwanych z każdego zwierzęcia. W zaproponowanym doświadczeniu zaplanowano użycie metod, które pozwalają uniknąć czasochłonnego krzyżowania myszy, dzięki czemu zmniejsza się liczba wykorzystywanych do doświadczeń zwierząt, zapewniając jednocześnie powtarzalny wynik.

Refinement (udoskonalenie): wykorzystywane zwierzęta są utrzymywane w warunkach SPF, w wentylowanych klatkach zawierających wzbogacenia (klocki drewniane, bawełniane kokony na ściółce osikowej odpylonej), a metody badawcze zastosowane w procedurach zostały wybrane tak, aby ograniczały do minimum albo eliminowały ból i cierpienie. Warunki życia zwierząt doświadczalnych, przenoszenie oraz czynności badawcze są prowadzone przez wyspecjalizowany personel. Codzienna kontrola stanu zwierząt pozwoli na szybkie zidentyfikowanie wszystkich chorych lub okaleczonych zwierząt i podjęcie odpowiednich działań. W doświadczeniu zaplanowano użycie najnowszych technik

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

biologii molekularnej pozwalających na maksymalizację otrzymanych danych. Zaplanowano kompleksową analizę obejmującą komórki i tkanki pochodzące z całego organizmu, aby w jak największym stopniu wykorzystać materiał badawczy. Uzyskane w ten sposób informacje mogą posłużyć w przyszłości do opracowania nowych terapii przeciwdziałających postępowi miażdżycy.

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.