

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

Tytuł projektu Wpływ tris pirofosforanu mioinozytolu (ITPP) na układ sercowo-naczyniowy i płuca szczura w modelu nadciśnienia płucnego indukowanego monokrotaliną

1. Czas trwania projektu 3 lata

2. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) ITTP, układ sercowo-naczyniowy, nadciśnienie płucne,

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.

Projekt dotyczy badań podstawowych, kategorii obejmującej sercowo-naczyniowy układ krążenia krwi i limfy. Celem projektu jest zbadanie, czy ITTP (trispifosforan inozytolu) może wpływać korzystnie na funkcje układu sercowo-naczyniowego i płuc w nadciśnieniu płucnym oraz niewydolności prawej komory (RV)

Nadciśnienie płucne (PH) jest śmiertelną i obecnie nieuleczalną chorobą. Może to wynikać z faktu, że jego patofizjologia jest słabo znana. Celem tego projektu jest przetestowanie hipotezy, że trispifosforan mio-inozytolu (ITPP), nowy allosteryczny efektor hemoglobiny, który zarówno zwiększa zdolność uwalniania hemoglobiny, jak i aktywuje PTEN regulujący waskularyzację płucną, wykazuje korzystne działanie w szczurzym monokrotalinowym modelu nadciśnienia płucnego degenerujący w niewydolność prawej komory serca. Wykazanie korzystnego wpływu działania tej substancji może umożliwić wprowadzenie nowego rodzaju leczenia nadciśnienia płucnego.

Do badań zostaną wykorzystane szczury wędrowne ze stada outbreed Cmdb:Wi płci męskiej (n=170). W związku z brakiem jakichkolwiek badań działania ITPP na nadciśnienie płucne, celem tego projektu jest wykonanie kilku różnych modyfikacji podobnego modelu badawczego, stąd mnogość procedur. Zakładają one jednak ten sam model badawczy i podobne czynności, tylko w różnych sekwencjach i przy różnym stopniu zaawansowania wyindukowanej choroby.

Do zrealizowania celów projektu wykorzystane będą szczury wędrowne, stado outbreed Cmdb:wi płci męskiej które zostaną podzielone na następujące grupy:

1. Szczury otrzymujące dootrzewnową iniekcję ITPP/sól fizjologiczną bezpośrednio po iniekcji monokrotaliny indukującej nadciśnienie płucne
2. Szczury otrzymujące dootrzewnową iniekcję ITPP/sól fizjologiczną bez indukcji nadciśnienia płucnego (grupa kontrolna do grupy 1)
3. Szczury otrzymujące ITPP/sól fizjologiczną 4 tygodnie po indukcji niewydolności prawej komory serca przy użyciu monokrotaliny
4. Szczury otrzymujące ITPP/sól fizjologiczną po 4 tygodniowym odstępie od włączenia do badania (kontrola do grupy 3)
5. Szczury z indukcją nadciśnienia płucnego niższą dawką monokrotaliny oraz podaniem inhibitora PTEN
6. Szczury bez indukcji nadciśnienia płucnego ale z podaniem inhibitora PTEN (kontrola do grupy 5)
7. Szczury z indukowaną niewydolnością prawą komorową serca z jednorazową iniekcją ITPP
8. Szczury z indukowanym nadciśnieniem płucnym serca z jednorazową iniekcją ITPP
9. Szczury otrzymujące jednorazową iniekcję ITPP (grupa kontrolna do grup 7 i 8)

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Do badań zostaną wykorzystane 170 samców szczurów wędrownych, stado outbreed Cmdb:Wi.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

W celu przygotowania doświadczenia wykonano przegląd literaturowy dostępnych publikacji w bazach: PubMed, EBSCO, Google Scholar, Web of Science, Science Direct, Agricola, Health Source-Consumer Edition, przy wykorzystaniu słów kluczowych: pulmonary hypertension, ITTP, hypoxia, oxygen delivery, right heart failure, PTEN.

Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że ITTP jest stosunkowo nową substancją i ilość badań z zakresu nauk podstawowych jest ograniczona. Analiza wykazała, że dostępne są prace pokazujące korzystny wpływ ITTP na obszary objęte guzem nowotworowym. ITTP w modelu nowotworowym neutralizuje warunki hipoksji obecne w obszarze guza, utrudniając jego dalszą ekspansję.

Dostępna jest także praca dotycząca wpływu działania ITTP w modelu niewydolności serca u myszy. Badania pokazują, że ITTP może zwiększać dostępność tlenu w tkankach poprawiając maksymalną zdolność wysiłkową u myszy w modelu niewydolności serca. Badania te jednak nie podejmowały próby oceny hemodynamicznej i echokardiograficznej funkcjonowania organu. W przypadku tej substancji nie ma dostępnych danych literaturowych opierających się na szczurzym modelu nadciśnienia płucnego czy niewydolności prawej komory serca.

Wyniki przedstawionego przez nas projektu mogą pozwolić na ocenę wpływu działania substancji jaką jest ITTP w dwóch mechanizmach, szybkim przez wzrost dostępności tlenu pochodzącego z hemoglobiny, a także długotrwały przez aktywację czynnika PTEN poprzez złożone badania obrazowe oraz funkcjonalnej oceny hemodynamicznej całego organu w modelu nadciśnienia płucnego/niewydolności prawej komory serca.

Badanie nad potencjalnymi lekami dla chorych z nadciśnieniem płucnym są szczególnie ważne. Jest to choroba w której ryzyko śmierci jest nadal bardzo wysokie i nadal nie udało się stworzyć optymalnych metod jej leczenia.

ZASTĄPIENIE

Wykonanie modelu nadciśnienia płucnego/niewydolności prawej komory serca nie jest możliwe bez wykorzystania zwierząt kręgowych. Ponieważ jest to choroba ogólnoustrojowa, badania mogą być prowadzone wyłącznie przyżyciowo. Ponadto przez wzgląd, iż choroba ta dotyczy całego narządu, niemożliwym jest prowadzenie badań z wykorzystaniem linii komórkowych czy tkanek.

Nadciśnienie płucne i niewydolność prawej komory serca to choroba, która jest związana z występowaniem wielu

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

chorób towarzyszących, typowa dla osób starszych. W związku z czym ciężko jest zbadać wpływ działania jednej substancji u chorych z nadciśnieniem płucnym/niewydolnością prawej komory serca, gdyż nie wiadomo czy substancja ta nie będzie wpływała na inne organy i choroby towarzyszące. Stąd też by zbadać wpływ substancji w niewydolności serca potrzebna jest jednorodna grupa, a taką stanowią zwierzęta laboratoryjne.

Zastosowanie substancji nie będących jeszcze szczegółowo przebadanych uniemożliwia wykonanie tego badania na grupie chorych. W związku z tym szczególnie ważne jest zbadanie działania substancji na układ sercowo-naczyniowy. Wykonywanie badania wpływu działania substancji na organ oraz cały układ krwionośny uniemożliwia wykonanie tego badania na hodowlach komórkowych i tkankowych.

OGRANICZENIE

W celu spełnienia „zasady ograniczenia” podczas planowania eksperymentów dokonaliśmy: statystycznego opracowania liczebności grup, przeglądu literaturowego w celu zastosowanie odpowiednich metod w doświadczeniach, uwzględniliśmy szacowaną przez nas (na podstawie naszych doświadczeń) częstość umieralności zwierząt w doświadczeniu. Dzięki powyższym działaniom liczba zwierząt planowanych do wykorzystania w projekcie została zredukowana do koniecznego minimum pozwalającego na wiarygodną analizę statystyczną i weryfikację postawionego problemu badawczego. Wszystkie czynności wykonywane w tym projekcie są rutynowo stosowane w badaniach, w związku z czym unikamy niepowodzenia, a więc ostatecznie ograniczymy ilość zwierząt. Każda z osób biorąca udział w tym projekcie ma wieloletnie doświadczenie w pracy ze zwierzętami.

UDOSKONALENIE

W celu poprawy dobrostanu zwierząt zastosowano: odpowiednie warunki bytowe dla szczurów, handling, wzbogacenia środowiska. Zwierzęta będą utrzymywane w odpowiednich dla nich warunkach, a metody badawcze zostały tak dobrane, aby ograniczały do minimum ból, cierpienie, dystres lub możliwość trwałego uszkodzenia ich organizmu. Projekt zaplanowany jest w taki sposób, by ograniczyć podaż anestetyków. W większości metod przyżyciowych zastosujemy łagodne znieczulenie wziewne, po którym zwierzęta szybko są w stanie się wybudzić. Dodatkowo, by ograniczyć liczbę znieczuleń część czynności będzie wykonywanych jedna po drugiej (echo, cewnikowanie) oraz bezpośrednio przed uśmiercaniem dzięki czemu zwierzę będzie usypiane mniej razy. Sam model doświadczenia został skonstruowany tak, aby ilość czynności zredukować do minimum oraz żeby zwierzęta nie odczuwały bólu. Czynności wykonywane na zwierzętach, poza czynnością terminalną, są stosunkowo mało bolesne dla zwierząt i/lub krótkotrwałe (zastrzyki, badanie echokardiograficzne). Doświadczenia na zwierzętach są stosunkowo krótkie (krótki czas indukcji choroby, procedury z jednorazowym podaniem substancji badanej) i każde z doświadczeń jest zakończone pobraniem serca będącej jednoczesnym uśmierceniem zwierzęcia, dzięki czemu zwierzęta nie cierpią długotrwale pozostając w zaawansowanym stadium choroby. Ponadto wszystkie procedury

będą wykonywane przez doświadczony i przeszkolony zespół, który przygotowuje zwierzęta do technik eksperymentalnych oraz prawidłowo zaplanuje ich uśmiercanie.

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.