

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu pt. "Wytworzenie nowych donorów siarkowodoru i zbadanie ich wpływu na układ krążenia."

2. Czas trwania projektu 1.10.2018 – 1.10.2023

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) blood pressure, hypertension, hydrogen sulfide, H₂S-donor, gaseous transmitter.

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) A. Badania podstawowe

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 proponowanego projektu jest wytworzenie nowych donorów H₂S i zbadanie ich wpływu na regulację ciśnienia tętniczego oraz rozwoju nadciśnienia tętniczego u zwierząt normotensyjnych (szczury WKY), zwierząt hipertensyjnych (szczury SHR) oraz u zwierząt z granicznym nadciśnieniem tętniczym (szczury BHR). Planowane jest również opracowanie selektywnych i czułych metod wykrywania H₂S, umożliwiających zbadanie właściwości i funkcji H₂S w systemach biologicznych oparte na metodach fluorescencyjnych.

Nadciśnienie tętnicze i jego powikłania są jednymi z głównych przyczyn zachorowalności i śmiertelności w Polsce i Unii Europejskiej. Niewyjaśniona etiologia pierwotnego nadciśnienia tętniczego jest wyzwaniem dla naukowców i utrudnia znalezienie optymalnego leczenia dla pacjentów z nadciśnieniem tętniczym.

H₂S jest ważnym biologicznym mediatorem odgrywającym istotną rolę w regulacji ciśnienia tętniczego a zaburzenia homeostazy H₂S mogą prowadzić do rozwoju nadciśnienia tętniczego. Wykazano, że obwodowe i ośrodkowe infuzje donorów siarkowodoru wywołują obniżenie ciśnienia tętniczego u zwierząt hipertensyjnych. W związku z tym, donory siarkowodoru mogą stanowić nową grupą związków o działaniu hipotensyjnym.

Ważnym ograniczeniem w badaniach nad funkcjami H₂S w regulacji ciśnienia tętniczego jest brak wolno uwalniających donorów siarkowodoru. Dostępne obecnie donory H₂S są słabo rozpuszczalne w wodzie i bardzo słabo uwalniają H₂S w warunkach fizjologicznych.

W związku z tym zostaną opracowane metody syntezy nowych donorów H₂S, które będą charakteryzowały się dobrą rozpuszczalnością w wodzie oraz wolnym uwalnianiem H₂S w warunkach *in vivo* i *in vitro*.

Badanie zmian parametrów hemodynamicznych na infuzje dożylnie lub dootrzewnowe nowo zsyntezowanych donorów H₂S pomoże ocenić potencjał terapeutyczny donorów siarkowodoru w chorobach układu krążenia, szczególnie w nadciśnieniu tętniczym. Z kolei wytworzenie detektorów H₂S uwalniających fluorofory w momencie kontaktu z H₂S w tkankach i w komórkach znacznie poszerzy wiedzę na temat mechanizmów i miejsca działania H₂S.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Badanie zostanie przeprowadzone na 64 szczurach, w tym:

16 samców Wistar Kyoto (WKY)

16 samców Spontaneously Hypertensive Rats (SHR)

16 samców z granicznym nadciśnieniem tętniczym (BHR, F1 hybryda po skojarzeniu SHR x WKY).

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy sprawdzono dostępną wiedzę na temat H₂S jako ważnego biologicznego mediatora odgrywającego istotną rolę w regulacji ciśnienia tętniczego i rozwoju nadciśnienia tętniczego oraz donorów siarkowodoru wywołujących obniżenie ciśnienia tętniczego u zwierząt hipertensyjnych. W następujących bazach danych: Google Scholar, PubMed, Web of Science.

Wykorzystano następujące słowa kluczowe: blood pressure, hypertension, hydrogen sulfide, H₂S-donor, gaseous transmitter.

- A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że H₂S jest ważnym biologicznym mediatorem odgrywającym istotną rolę w regulacji ciśnienia tętniczego a zaburzenia homeostazy H₂S mogą prowadzić do rozwoju nadciśnienia tętniczego.

Wykazano, że obwodowe i ośrodkowe infuzje donorów siarkowodoru wywołują obniżenie ciśnienia tętniczego u zwierząt hipertensyjnych. W związku z tym, donory siarkowodoru mogą stanowić nową grupę związków o działaniu hipotensyjnym.

Ważnym ograniczeniem w badaniach nad funkcjami H₂S w regulacji ciśnienia tętniczego jest brak wolno

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

uwalniających donorów siarkowodoru. Dostępne obecnie donory H₂S są słabo rozpuszczalne w wodzie i bardzo słabo uwalniają H₂S w warunkach fizjologicznych.

- B. Brak jest jednoznacznych danych dotyczących metod syntezy związków które byłyby rozpuszczalne w wodzie i w sposób ściśle określony uwalniają siarkowodor w warunkach in vivo i in vitro. Wykorzystanie nowo zsyntetyzowanych donorów H₂S pozwoli ocenić wpływ zwiększonego stężenia H₂S na regulację ciśnienia tętniczego oraz rozwój nadciśnienia

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

- A. Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy na temat metod syntezy donorów siarkowodoru i ich wpływu na regulację ciśnienia tętniczego oraz rozwój nadciśnienia.
- B. Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegającej na ocenie potencjału terapeutycznego nowych donorów siarkowodoru w chorobach układu krążenia, szczególnie w nadciśnieniu tętniczym.

Replacement – Zastąpienie:

Wybrany model szczura jest modelem optymalnym dla wyżej opisanych badań. Badane procesy fizjologiczne są wypadkową współdziałania wielu narządów, tkanek oraz hormonów dlatego też nie możliwe jest zastosowanie metod alternatywnych tj. hodowle komórkowe, tkankowe. Również istota samych obserwacji jak praca serca, krążenie i ciśnienie krwi, reakcja na wykonywane procedury chirurgiczne oraz podawane leki wymaga badań na żywym zwierzęciu. Nie jest możliwe również zastąpienie opisanego modelu zwierzętami o niższym rozwoju ewolucyjnym ze względu na różnice: anatomiczne dużych naczyń oraz fizjologiczne w reakcjach na podawane substancje, których efekty działania u innych grup organizmów niż ssaki nie mogą być w pełni obiektywne, ze względu na ograniczony stopień ich poznania. Ponadto optymalna jest wielkość zwierząt i możliwość wykonywania zabiegów na naczyniach krwionośnych. Co ważne zespół badawczy ma doświadczenie w pracy ze szczurem wędrownym w zakresie chirurgii naczyniowej co gwarantuje zarówno bezpieczeństwo dla zwierząt zarówno w zakresie anestezji jak i samego zabiegu. Szczur wędrowny jest najczęściej używanym zwierzęciem laboratoryjnym w badaniach z zakresu kardiologii eksperymentalnej, dlatego uzyskane wyniki będzie można łatwo zweryfikować, odnieść do innych badań i wyciągnąć jak najpełniejsze wnioski.

W badaniu wykorzystane zostaną szczepy szczurów różniące się ciśnieniem tetniczym krwi, w celu oceny / aby ocenić /czy nowe donory H₂S mogą być stosowane w leczeniu chorób układu krążenia, w szczególności nadciśnienia tętniczego.

Reduction - Ograniczenie:

Przyjęto najmniejszą statystycznie istotną liczebność grup badanych tj. 8 osobników na grupę. Należy podkreślić, że wykonywane zabiegi w minimalnym stopniu stwarzają ryzyko zgonu zwierzęcia, dlatego większe ograniczenie liczebności grup może skutkować, w przypadku śmierci pojedynczych zwierząt, utratą istotności statystycznej w opisanych badaniach, a tym samym nieważność uzyskanych wyników.

Refinement - Udoskonalenie:

Zespół badawczy ma duże doświadczenie w pracy ze szczurem wędrownym w zakresie chirurgii naczyniowej co gwarantuje zarówno bezpieczeństwo dla zwierząt w zakresie anestezji jak i samego zabiegu. Środowisko bytowania zwierząt wzbogacone będzie o drewniane gryzaki osikowe oraz rurki tekturowe.

Zwierzęta w czasie zabiegów będą poddane znieczuleniu ogólnemu. W procedurze 1 i 2 przeprowadzane

pomiary hemodynamiczne będą również źródłem informacji o dobrostanie zwierząt (tętno, ciśnienie krwi) i umożliwią reagowanie na pojawiające się somatyczne objawy bólu, cierpienia lub stresu u 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.