

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

Tytuł projektu: **Ocena hipotensyjnego i naczynioprotekcyjnego działania związków zwiększających biodostępność tlenu azotu w szczurzym modelu nadciśnienia tętniczego krwi**

1.Czas trwania projektu: 02.01.2017- 31.12.2017

2.Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): **dysfunkcja śródbłonna, nadciśnienie, szczury, azotan (III) sodu, epikatechiny**

3.Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) **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.

Dysfunkcja śródbłonna powiązana z upośledzeniem biodostępności tlenu azotu (NO) stanowi pierwotną przyczynę rozwoju wielu chorób sercowo-naczyniowych, w tym nadciśnienia tętniczego. Z analizy danych dotyczących mechanizmów patofizjologicznych dysfunkcji śródbłonna wynika, że podawanie kombinacji prekursorów tlenu azotu oraz antyoksydantów może poprawić biodostępność NO, zahamować jego degradację, a tym samym ograniczyć upośledzenie syntezy NO i poprawić czynność śródbłonna naczyń krwionośnych.

Celem projektu będzie ocena addytywnego działania związków zwiększających biodostępność NO: azotanu (III) sodu oraz epikatechin w szczurzym modelu nadciśnienia tętniczego krwi ze szczególnym uwzględnieniem ich właściwości hipotensyjnych i naczynioprotekcyjnych.

Wybór azotanu (III) sodu, jako prekursora NO, został podyktowany rezultatami badania pilotażowego, w którym wykazano jego większą efektywność w stosunku do azotanów (V) oraz L-argininy. Z kolei na podstawie danych literaturowych wytypowano epikatechiny w postaci ekstraktu z ziaren kakao, które wykazują nie tylko działanie antoksydacyjne, ale również posiadają wyraźny potencjał naczynioprotekcyjny w kontekście różnych schorzeń przebiegających z dysfunkcją śródbłónka.

Zwierzęta zostaną podzielone na grupy doświadczalne, pozwalające na określenie potencjału terapeutycznego preparatu kombinowanego. Efektywność oraz addytywność działania kombinacji zostanie oceniona na podstawie natychmiastowej odpowiedzi (podanie „na ostro”) oraz terapii długotrwałej. W ramach eksperymentów zostanie wykonany szereg analiz oceniających czynność śródbłónka (parametry hemodynamiczne, biochemiczne i funkcjonalne) oraz status oksydacyjny. Zastosowanie szerokiego spektrum analiz daje możliwość pełnej weryfikacji efektów oraz określenia potencjalnych mechanizmów działania kombinacji badanych związków

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

1 szczur szczepu TGR(m-REN2)27

1 szczur szczepu SHRSP

20 szczurów szczepu TGR(m-REN2)27 lub SHRSP

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Na podstawie obszernego przeglądu literatury, stwierdzono, że przedmiot niniejszego wniosku tj. addytywność w działaniu kombinacji prekursorów tlenku azotu oraz antyoksydantów (w tym przypadku NaNO_2 oraz epikatechin) jest słabo poznany i posiada duży potencjał aplikacyjny. Scharakteryzowanie właściwości naczynioprotekcyjnych substancji naturalnie występujących w przyrodzie, jak również zdefiniowanie mechanizmów, według których działają na patologicznie zmieniony śródbłonek, wydaje się fundamentalne dla projektowania bardziej skutecznej profilaktyki i terapii.

Szczury są jednym z podstawowych gatunków zwierząt modelowych, powszechnie stosowanych w badaniach mechanizmów i odpowiedzi organizmu na aplikowane substancje bioaktywne o potencjale prozdrowotnym. Badania z wykorzystaniem modeli zwierzęcych stanowią istotny element badań

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

przedklinicznych, których nie są w stanie zastąpić badania *in vitro*. Stopień skomplikowania procesów metabolicznych przebiegających w organizmie uniemożliwia wykonanie tego typu eksperymentów na liniach komórkowych i hodowlanych, które m.in. nie są w stanie uwzględnić komunikacji międzykomórkowej i międzyorganów.

Dawki substancji aplikowanych zwierzętom (w mg/kg m.c./dobę) zostały ustalone na podstawie danych literaturowych oraz rezultatów wcześniejszych badań własnych, co zakłada maksymalny efekt terapeutyczny przy jednoczesnym braku skutków ubocznych np. wybrane stężenia NaNO_2 pozwalają uzyskać łagodny lub umiarkowany efekt hipotensyjny bez narażania na zaburzenia pracy serca. Masa ciała zwierząt będzie regularnie monitorowana, co umożliwi precyzyjne dawkowanie substancji.

Czynności zaplanowane w doświadczeniu, według aktualnego stanu wiedzy, są możliwie najmniej dotkliwe dla zwierząt. W przypadku pojawienia się alternatywnych procedur (zadowalających pod względem naukowym) o mniejszej dotkliwości dla zwierząt, zastąpią one procedury zaplanowane w badaniu, z zastrzeżeniem, że nie będzie to miało wpływu na jakość wyników.

Zastosowanie czujników telemetrycznych oraz wielokrotne aplikowanie substancji u jednego osobnika w eksperymencie z podaniem „na ostro” pozwala na ograniczenie liczby zwierząt do niezbędnego minimum przy zachowaniu ilości powtórzeń umożliwiającej opracowanie statystyczne i uzyskanie wiarygodnych wyników. Dodatkową zaletą stosowania czujników telemetrycznych jest możliwość gromadzenia danych bez zbędnej ingerencji człowieka i ograniczenie czynnika stresu do koniecznego minimum.

Zaplanowana w procedurze 3 liczba zwierząt została ograniczona do wartości minimalnej zapewniającej uzyskanie rzetelnych wyników. Ponadto, doświadczenie zostało tak zaprojektowane, aby umożliwić wykonanie uzupełniających się analiz z użyciem tego samego materiału badawczego (np. osocze, aorta) oraz uzyskanie komplementarnych danych. Przeznaczenie 6 osobników w grupie do badań daje pewność, że uzyskane wyniki będą mogły być poddane testom i interpretacji statystycznej.

W celu udoskonalenia warunków bytowych zwierząt podczas prowadzenia eksperymentu, oprócz zapewnienia podstawowych warunków temperatury i wilgotności odpowiednich dla ich gatunku, każda z klatek dla zwierząt zostanie uzupełniona o drewniane gryzaki do ścierania zębów oraz domki wypoczynkowe.

Rezultaty niniejszego projektu, oprócz aspektu poznawczego, mogą przyczynić się także do opracowania nowych strategii w prewencji i leczeniu patologii śródbłonna naczyniowego w nadciśnieniu tętniczym krwi.