

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Naczynia limfatyczne i krwionośne w patologii serca w zespole metabolicznym – potencjalne cele terapeutyczne.

2. Czas trwania projektu: 24 miesiące

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): nadciśnienie, serce, cukrzyca, zespół metaboliczny

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.

Celem proponowanych eksperymentów jest zbadanie zmian zachodzących w sercu myszy cierpiących na zespół metaboliczny będący skutkiem mutacji w genie kodującym receptor dla leptyny (myszy transgeniczne BKS.Cg-Dock7m<sup>+/+</sup> Leprdb/J). Myszy te cierpią na otyłość, cukrzycę i hiperlipidemię co niekorzystnie wpływa na ich układ sercowo-naczyniowy – obserwuje się u nich obrzęk oraz degenerację naczyń limfatycznych i wieńcowych. Dodatkowo, aby pogłębić patologiczny obraz serca u myszy indukować będziemy nadciśnienie, które często towarzyszy chorobom metabolicznym, za pomocą angiotensyny II. W rozwoju naczyń, ale także w ich patogenezie, ogromną rolę odgrywają makrofagi, które w sercu dzielą się na kilka populacji o różnym potencjale limfangio- lub angiogennym. Dlatego w naszym doświadczeniu będziemy badać obecność makrofagów w patologicznie zmienionym sercu. U części badanych myszy wyindukowane zostanie nadciśnienie za pomocą angiotensyny II. Funkcja serca myszy monitorowana będzie z wykorzystaniem ultrasonografii wysokich częstotliwości. Monitorowana będzie również zmiana masy ciała myszy, a w materiale biologicznym, pobranym na końcu eksperymentu z wykorzystaniem cytometrii przepływowej określone zostaną populacje monocytów w krwi obwodowej i śledzione oraz populacje makrofagów w mięśniu sercowym, co pozwoli określić zmiany w liczebności badanych populacji i skorelować je ze zmianami parametrów funkcji serca. Zdobyta wiedza na temat znaczenia komórek zapalnych: makrofagów i monocytów w rozwoju niewydolności serca w zespole metabolicznym u osobników cierpiących na cukrzycę i nadciśnienie, może być w przyszłości wykorzystana do opracowania nowoczesnych terapii biologicznych tych schorzeń, których częstość w dzisiejszym społeczeństwie ciągle wzrasta.

## 6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

myszy C57BLKS/J, 45 osobników

myszy BKS.Cg-Dock7<sup>m+/+</sup> Lepr<sup>db</sup>/J, 45 osobników

## 7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA<sup>1</sup>

Wyniki uzyskane na zwierzętach będą podstawą do zaplanowania badań u ludzi i do opracowania badań klinicznych. Wcześniejsze badania, w których sprawdzono rolę makrofagów w rozwoju serca w zarodku myszy wykazały, że komórki te mają ogromny wpływ na rozwój naczyń wieńcowych i limfatycznych w tworzącym się sercu. Wykazano, że makrofagi tkankowe w sercu dzielą się na kilka subpopulacji i w zależności od ich profilu transkrypcyjnego mogą produkować czynniki modulujące angiogenezę i limfangiogenezę. W literaturze znajdujemy wiele doniesień o zaangażowaniu makrofagów w procesy patologiczne – na przykład ich wpływ na tworzenie się naczyń w guzach nowotworowych. Na tej podstawie uważamy, że makrofagi mogą być również zaangażowane w patogenезę zmian w sercu u chorych cierpiących na zespół metaboliczny. Identyfikacja czynnika lub czynników produkowanych przez makrofagi (np.: czynników wzrostowych, transkrypcyjnych czy miRNA) może w przyszłości zaowocować opracowaniem nowoczesnej terapii, która zatrzyma niekorzystne zmiany w sercach chorych cierpiących na cukrzycę czy nadciśnienie.

Podczas przygotowania wniosku uwzględniono zasadę 3R: zastąpienia, ograniczenia i udoskonalenia.

Zastąpienie (replacement): Zaplanowane badania nie mogą zostać przeprowadzone poza żywym organizmem. Projekt koncentruje się bowiem na komórkach – makrofagach – obecnych w tkance mięśnia sercowego. Wymaga to przeprowadzenia badań na zwierzętach, gdyż jedynie korzystanie z modeli in vivo umożliwi zbadanie rzeczywistej funkcji i właściwości tych komórek in situ. Wykonanie tego typu doświadczeń jest niemożliwe w układzie in vitro, ponieważ izolowane komórki, szczególnie komórki o wyjątkowo „plastycznym” fenotypie, takie jak makrofagi, mogą tracić istotne cechy w trakcie propagacji in vitro. Co więcej, pragniemy skupić się na zmianach populacji makrofagów i innych komórek zapalnych w wyniku rozwoju cukrzycy, nadciśnienia tętniczego i zespołu metabolicznego, co możliwe jest jedynie w układzie in vivo.

Ograniczenie (restriction): Badanie funkcji serca z wykorzystaniem ultrasonografu to bezinwazyjna i bezbolesna metoda diagnostyczna. Zastosowanie pompy infuzyjnej ogranicza dyskomfort zwierząt w trakcie wywoływania nadciśnienia tętniczego. Pompa infuzyjna pozwala na precyzyjne kontrolowanie dawki podawanego leku i dzięki niej nie ma potrzeby kilkunastodniowego nastrzykiwania zwierząt. Liczba zwierząt została ograniczona do minimalnej liczby potrzebnej do uzyskania statystycznie istotnych wyników; 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.

<sup>1</sup> Przy wypełnianiu wzorować się na instrukcji wypełniania wniosku W1 punkt. 8

Udoskonalenie (refinement): Wykorzystywane zwierzęta są utrzymywane w warunkach SPF, w wentylowanych klatkach, 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.