

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu **Analiza wpływu simwastatyny na aktywność oksygenazy hemowej-1 w trakcie rozwoju tętniaka aorty brzusznej**

2. Czas trwania projektu .....8 miesięcy.....

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) HO-1, stres oksydacyjny, statyny, tętniak aorty brzusznej, angiotensyna II

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.

Oksygenaza hemowa-1 (HO-1) jest enzymem antyoksydacyjnym, którego ekspresja zwiększa się w komórkach śródbłonna naczyń krwionośnych i komórkach mięśniówki gładkiej w odpowiedzi na stres oksydacyjny oraz czynniki prozapalne. Wiadomo też, że HO-1 wykazuje ochronne właściwości w przebiegu chorób układu krążenia o podłożu miażdżycowym, których powikłaniem jest tętniak aorty brzusznej (TAB). Obserwacje przyżyciowe rozwoju TAB (USG Doppler) wskazują na istotne różnice w tworzeniu tętniaka w pierwszych dwóch tygodniach od momentu rozpoczęcia podawania Ang II u mysz pozbawionych HO-1. Różnice te związane są m.in. z wpływem HO-1 na budowę aorty. Obecnie jedną z najczęściej przyjmowanych statyn jest simwastatyna, która hamuje rozwój nadciśnienia tętniczego wpływając na produkcję angiotensyny II, a także zmniejsza poziom wolnych rodników, obniża produkcję cytokin prozapalnych i hamuje aktywność prozapalnych czynników transkrypcyjnych w ludzkiej tkance TAB. Analiza retrospektywna wykazała, że simwastatyna może wpływać na powstawanie tętniaka aorty brzusznej u mysz z niedoborem oksygenazy hemowej 1. Dlatego celem projektu jest ocena wpływu simwastatyny na ekspresję HO-1 w ścianie aorty i w tętniaku aorty brzusznej we wstępnym etapie tworzenia

tętniaka.

Realizacja projektu i uzyskane wyniki pozwolą na poznanie mechanizmów za pomocą których powszechnie stosowana simwastatyna wpływa na rozwój TAB oraz ocena roli HO-1 w tym procesie. Uzyskane wyniki, oprócz znaczenia poznawczego mogą być istotne klinicznie, gdyż pokażą czy statyny mogłyby być potencjalnie przydatne w terapii TAB.

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

W doświadczeniu 1 wykorzystamy łącznie 34 myszy w tym 17 myszy dzikich, oraz 17 myszy z niedoborem HO-1.

Planowane po 10 myszy na grupę badawczą i 7 myszy kontrolnych na grupę, to liczba konieczna do przeprowadzenia rzetelnej statystyki.

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

TAB powstaje najczęściej w osłabionym miejscu ściany aorty. Osłabienie to jest często wynikiem zmian miażdżycowych (Sakalihasan et al. 2005) i/lub nadciśnienia tętniczego (Kristensen et al. 2015). W modelach mysich kilkunastodniowe podawanie Ang II prowadzi do rozwoju TAB (Cheng et al. 2014). Te właściwości Ang II wykorzystamy w doświadczeniach na mysim modelu TAB.

Zaplanowane badania pozwolą na rzetelną ocenę mechanizmu za pomocą którego simwastatyna wpływa na aktywności HO-1 w czasie rozwoju tętniaka aorty brzusznej.

Materiał od zwierząt (aorta oraz krew obwodowa) będzie wykorzystany do szeregu analiz, takich jak analizy cytometryczne poszczególnych subpopulacji komórek prozapalnych, analizy histologicznej i immunohistochemicznej pozwalającej określić komórkową lokalizację HO-1 w tkance aorty, oraz analizy ekspresji genów i białek uczestniczących rozwoju tętniaka aorty brzusznej. Tkanki będą również udostępniane innym badaczom.

Dostępne metody badań *in vitro* z wykorzystaniem aortalnych komórek śródbłonna i mięśniówki gładkiej aorty dają jedynie częściową informację o wpływie badanych czynników na aktywność oksygenazy hemowej-1. Jednocześnie jak dotąd nie możliwe jest wywołanie w komórkach aorty zmian przypominających te w komórkach tętniaka. Ponadto, niedostępne są linie komórkowe komórek tętniaka aorty brzusznej, a hodowla pierwotna wymaga odpowiednio dobranych dawców i jest kosztowna oraz czasochłonna przy niewielkiej szansie powodzenia hodowli. Dlatego w badaniach nad patogenezą tętniaków aorty brzusznej powszechnie wykorzystuje się modele zwierzęce [Kurobe et al. (2013), Cheng et al. (2014)]. Wybrany model doświadczenia wykorzystuje myszy z prawidłowym poziomem apolipoproteiny E, na diecie wysokołuszczonej, którym

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

przez podskórną wszczepioną infuzyjną pompę osmotyczną podawana będzie angiotensyna II. Zastosowanie pompy infuzyjnej ogranicza dyskomfort zwierząt w trakcie wywołania tętniaka. Pompa infuzyjna pozwala na precyzyjne kontrolowanie dawki podawanego leku i dzięki niej nie ma potrzeby kilkunastodniowego nastrzykiwania zwierząt. Ponadto metoda ta w krótkim czasie (ok. 10 dni) pozwala wywołać tętniak aorty brzusznej, co skraca czas doświadczenia. Tak krótki czas wywołania tętniaka pozwala także na wprowadzenie do modelu związków o potencjalnie terapeutycznym działaniu (np. statyn). Ponieważ tętniak aorty brzusznej częściej występuje u mężczyzn, oraz u osób starszych powyżej 60 roku życia, u których ściana naczynia krwionośnego jest osłabiona, w zaplanowanych doświadczeniach wykorzystamy samce myszy 6-7 miesięcznych.

Wykorzystane zwierzęta będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla myszy, a metody badawcze zastosowane w procedurach zostały wybrane tak aby ograniczyć do minimum ból i stres zwierząt. Dodatkowo w badaniu wykorzystane zostaną myszy transgeniczne z wyciszoną ekspresją HO-1, co zastąpi farmakologiczną inhibicję HO-1, która ma ograniczoną skuteczność, wiąże się z wprowadzeniem dodatkowych procedur w doświadczeniu (m.in.. kilkukrotnym nastrzykiwaniem zwierząt). Zatem wykorzystanie myszy z niedoborem HO-1 pozwoli na uzyskanie wiarygodnych wyników przy minimalnej liczbie zwierząt w doświadczeniu.

Opisane procedury wywołania TAB są ogólnie przyjęte na świecie (patrz m.in. publikacje Kurobe, et al. (2013), Cheng et al. 2014) i jednocześnie pozwalają na rzetelne porównanie otrzymanych wyników opublikowanych przez różne jednostki badawcze.