

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: OCENA PROGRESJI DYSFUNKCJI ŚRÓDBŁONKA NACZYNIOWEGO W MODELACH MYSICH Z WYKORZYSTANIEM TECHNIK OBRAZOWANIA IN VIVO

2. Czas trwania projektu: 3 lata

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): obrazowanie MR, obrazowanie dopplerowskie, dysfunkcja śródbłonna, farmakoterapia śródbłonna, zespół metaboliczny

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych): A - badanie 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 naczyniowego jest cechą charakterystyczną wielu chorób nie tylko układu sercowo-naczyniowego. Z tego względu rozwój metod pozwalających na ocenę stanu śródbłonna *in vivo*, w modelach zwierzęcych jest kluczowy dla badań przedklinicznych, oceniających skuteczność farmakoterapii śródbłonna. Obecnie istnieje wiele metod fizycznych i biochemicznych pozwalających na ocenę dysfunkcji śródbłonna w warunkach klinicznych, u ludzi. Jednak zastosowanie takich metod, w warunkach eksperymentalnych jest trudne, ze względu na rozmiar badanych zwierząt. Obrazowanie magnetyczno-rezonansowe (MR), dzięki swoim licznym możliwościom, stanowi metodę mogącą sprostać wymaganiom wysokiej rozdzielczości czasowo-przestrzennej. Dodatkową zaletą metody jest możliwość badań naczyń centralnych a nie tylko obwodowych, co często bywa ograniczeniem innych

metod fizycznych. Pomiary śródbłonkowo-zależnej odpowiedzi funkcjonalnej, są standardową metodą oceny fenotypu śródbłonka w warunkach klinicznych. Z tego powodu mają zasadnicze znaczenie dla badań oceniających stan śródbłonka jak i skuteczność terapii nakierowanej na śródbłonek w mysich modelach *in vivo*, a pomiary zmian przepuszczalności naczyń, stanowią istotne uzupełnienie tych wyników. Dodatkowo, wiele badań prowadzonych u ludzi opiera się na ocenie prędkości przepływu krwi przez naczynie. W warunkach eksperymentalnych oprócz obrazowania MR, obiecującym sposobem oceny jest wykorzystanie pomiaru USG-Doppler, pozwalającego na wykonanie oceny z powierzchni skóry w czasie rzeczywistym bez konieczności tworzenia obrazu. Zatem celem badania jest opracowanie kompleksowej metodyki oceny stanu śródbłonka w mysich modelach przy użyciu obrazowania MR i pomiaru USG-Doppler. Eksperyment przyczyni się do rozwoju metod oceniających stan śródbłonka oraz skutków farmakoterapii nakierowanej na śródbłonek *in vivo*, jak i poznania mechanizmów zaangażowanych w rozwój wczesnych zmian funkcji śródbłonka.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W doświadczeniu planowane jest wykorzystanie :

- a)** myszy Tgα₂*44 (samice, n=**30**),
- b)** myszy FVB (samice, n=**30**).
- c)** myszy ApoE/LDLR^{-/-} (samice, n=**30**),
- d)** myszy C57BL/6 (samice lub samce, n=**220**),
- e)** myszy E3L.CETP (samice, n=**40**),

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Podczas planowania powyższego doświadczenia, dokonana została analiza dotychczasowej wiedzy literaturowej i eksperymentów naukowych dotyczących oceny fenotypu śródbłonka naczyniowego w mysich modelach *in vivo* w następujących bazach danych: PUBMED, Google Scholar, Web of Science. W poszukiwaniach wykorzystano następujące kluczowe słowa: obrazowanie MR, obrazowanie dopplerowskie, dysfunkcja śródbłonka, farmakoterapia śródbłonka, zespół metaboliczny. Na podstawie uzyskanych danych literaturowych stwierdza się, że istnieje niewiele prac opisujących badania związane z oceną stanu śródbłonka *in vivo* w modelach mysich. Uzyskany materiał badawczy pozwala na

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

opracowanie szybkiego i wieloparametrowego protokołu oceny stanu śródbłonka in vivo oraz skutków farmakoterapii nakierowanej na śródbłonek. Brak jest kompleksowych/wieloparametrowych metod oceny stanu śródbłonka in vivo w modelach mysich pozwalających na profilowanie śródbłonkowego działania leków, konkretnych danych dotyczących rodzajów leków o potencjalnym działaniu pro-śródbłonkowym, jak również informacji o mechanizmach wczesnej dysfunkcji śródbłonka w mysim modelu zespołu metabolicznego. Uzyskanie wyników z planowanego projektu badawczego pozwoli na poznawcze rozwinięcie istniejącej wiedzy w kierunku skutków działania leków pro-śródbłonkowych, co w konsekwencji przyczynić się może do przyspieszenia procesu przedklinicznego testowania leków, a tym samym przyspieszenia procesu prób klinicznych. Uzyskane dane z przeprowadzonego badania farmakologicznego u myszy przebywających na diecie wysokotłuszczowej mogą przyczynić się do poznania zaangażowanych w rozwój wczesnych zmian funkcji śródbłonka w tym modelu. Samo wdrażanie obrazowania MR/USG-doppler w celu detekcji/oceny tkanki na modelach zwierzęcych jest już realizacją zasady 3R. Dzieje się tak ponieważ stosowane techniki obrazowania są metodami nieinwazyjnymi (ograniczenie cierpienia i stresu – zasada udoskonalenia/złagodzenia) a ponadto pozwala na pomiar kilkukrotny danego parametru/tkanki u jednego zwierzęcia np. w miarę progresji choroby, nie wymagając uśmiercenia zwierzęcia (zasada ograniczenia liczby zwierząt). Natomiast zasada zastąpienia w tym przypadku jest realizowana przez wybranie gryzoni u których mechanizmy funkcjonowania i regulacji w układzie sercowo – naczyniowy są zbliżone do tych występujących u ludzi, przez co mysz domowa jest popularnym modelem wielu chorób układu sercowo – naczyniowego. Dodatkowo udoskonalenie/złagodzenie metody będzie zrealizowane poprzez zastosowanie protokołu do pomiarów naczyń obwodowych. Pomiar FMD metodą obrazowania MR pozwoliłby na ocenę śródbłonkowo-zależnej odpowiedzi bez podania acetylocholiny - w sytuacji kiedy ocena śródbłonkowo-zależnej odpowiedzi naczynia na podanie acetylocholiny nie będzie konieczna - co pozwala na ograniczenie ingerencji w organizm myszy ograniczając stres i stopień inwazyjności czynności eksperymentalnej. Próba zastosowania nowszych gadolinowych środków kontrastowych (w tym liposomów gadolinowych), może pozwolić na uzyskanie porównywalnych danych bez konieczności stosowania środków w połączeniu z albuminą, które (ze względu na skutki uboczne) nie są stosowane już u ludzi. Jednoczesny pomiar przepuszczalności śródbłonka jak i jego funkcji pozwala na zmniejszenie liczby pomiarów wykonywanych na jednym zwierzęciu, co w konsekwencji wiąże się również ze zmniejszoną liczbą stosowanych zwierząt. Ocena progresji dysfunkcji śródbłonka w różnych modelach, pozwoli również na wybór najlepszego wieku, szczepu jak i płci myszy do przyszłych

eksperymentów oceniających skuteczność farmakoterapii czy też uszkodzenia funkcji śródbłonka wywołane podawaniem leków. Jest to kolejny wkład pozwalający na wykorzystanie myszy z dostateczną ale nie najdotkliwszą formą dysfunkcji śródbłonka. Przeprowadzone po obrazowaniu MR/USG-Doppler eksperymenty ex vivo na pobranych tkankach i narządach, pozwalają na maksymalne pozyskanie danych mówiących o stanie śródbłonka, co przyczyni się do całkowitej redukcji ilości koniecznych do przeprowadzenia eksperymentów.