

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Rola Sirtuiny 1 (Sirt1) w farmakologii szlaku MNA/Sirt1

2. Czas trwania projektu .....3 lata.....

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) ..... obrazowanie MR, obrazowanie dopplerowskie, sirtuina, dysfunkcja śródbłónka, farmakoterapia śródbłónka

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.

Celem badań w projekcie jest: (1) ocena progresji dysfunkcji śródbłónka w mysim modelu transgenicznym endothelial CDK5R1(EC-p25) (model myszy z nadekpresją białka EC-p25 w śródbłónku oddziałującym z Sirt 1) przy użyciu nieinwazyjnych metod obrazowania, w tym obrazowania magnetyczno-rezonansowego (MR) i dopplerowskiego (USG-Doppler) oraz (2) zbadanie skutków farmakoterapii na rozwój dysfunkcji śródbłónka, przy użyciu MNA o działaniu pro-śródbłonkowym w tym na fenotyp ścian naczyń, przy wykorzystaniu modelu EC-p25. Dodatkowo cel 2 zostanie zrealizowany z udziałem 2 innych mysich modeli transgenicznym przebywających na diecie wysokotłuszczowej (endothelial/liver Sirt1KO) w celu dokładnej lokalizacji sirtuiny 1 na którą może potencjalnie oddziaływać MNA.

Dodatkowo w celu sprawdzenia drogi aktywacji Sirt-1 planuje się wykorzystanie RO 32 44794 jako

inhibitora dla syntazy prostacykliny u wszystkich 3 szczepów myszy (EC-p25, endothelial/liver Sirt1KO) (Procedura 2).

W powyższych procedurach wyniki zostaną porównane do wyników uzyskanych w grupie kontrolnej (C57BL/6) przebywającej na standardowej diecie (AIN93G lub Altromin)

Przed eutanazją, przewiduje się umieszczenie zwierząt w klatkach metabolicznych (analiza moczu).

Następnie zwierzęta zostaną poddane eutanazji z pobraniem tkanek i narządów do badań ex vivo, badań biochemicznych, w celu korelacji parametrów z wynikami obrazowania.

Przewiduje się również ponowne wykonanie czynności związanej z obrazowaniem MR lub dopplerowskim, co pozwoli na zredukowanie liczby zwierząt.

Eksperyment przyczyni się do poszerzenia wiedzy na temat roli sirtuiny 1 w rozwoju dysfunkcji śródbłónka oraz roli Sirt-1 w farmakologii szlaku MNA/Sirt1. Planowane doświadczenie należy do badań podstawowych: sercowo naczyniowy układ krążenia krwi i limfy.

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

W doświadczeniu planowane jest wykorzystanie :

- a) myszy C57Bl/6 n=120
- b) myszy endothelial CDK5R1 (EC-p25) n=120
- c) myszy Endothelial Sirt1KO n=45
- d) myszy Liver Sirt1KO n=45

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

Podczas planowania powyższego doświadczenia, dokonana została analiza dotychczasowej wiedzy literaturowej i eksperymentów naukowych dotyczących oceny fenotypu śródbłónka naczyniowego w

---

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

mysich modelach in vivo w następujących bazach danych: PUBMED, Google Scholar, Web of Science.

W poszukiwaniach wykorzystano następujące kluczowe słowa: obrazowanie MR, obrazowanie dopplerowskie, sirtuina, dysfunkcja śródbłónka, farmakoterapia śródbłónka, dieta wysokotłuszczowa.

Ostatnie badania pokazały istotną rolę Sirt-1 w śródbłónku, jak również fakt, że w aktywacji bądź inhibicji aktywności sirtuin upatruje się udziału 1-metylnikotynamidu (MNA). Opublikowane badania wykazały również, że MNA posiada zdolność do hamowania rozwoju dysfunkcji śródbłónka, działając przeciwzapalnie i naczynioprotekcyjnie. W szczurzym modelu hipertriglicerydemii i cukrzycy indukowanej odpowiednią dietą fruktozową lub podaniem streptozotocyny MNA przywracał czynność śródbłónkowej, wykazywał również działanie przeciwzakrzepowe, a w/w doniesienia były związane z aktywnością śródbłónkowego układu COX-2/PGI2.

Jednakże, na podstawie uzyskanych danych literaturowych stwierdza się, że istnieje niewiele prac opisujących mechanizmy działania sirtuin w rozwoju dysfunkcji śródbłónka, a także wpływu MNA na działanie tego szlaku. Przypuszcza się, że zastosowanie leków ukierunkowanych na SIRT1 w komórkach śródbłónka może stanowić obiecującą terapię w leczeniu chorób związanych z wiekiem.

Zaprojektowane badanie ma na celu zbadanie mechanizmu działania sirtuin w rozwoju dysfunkcji śródbłónka a także wpływu MNA na działanie tego szlaku.

Ponadto, uzyskanie wyników z planowanego projektu badawczego pozwoli na poznawcze rozwinięcie istniejącej wiedzy w kierunku skutków działania leków pro-śródbłónkowych, 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 śródbłónka 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 acetylocholin - w sytuacji kiedy ocena śródbłonkowo-zależnej odpowiedzi naczyń na podanie acetylocholin 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 modelu EC-25, pozwoli również na wybór najlepszego wieku 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.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną<sup>2</sup>

- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 1 ustawy
- ☐ TAK - na podstawie art. 53 ust. 3 ustawy
- ☒ NIE

---

<sup>2</sup> Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.

