

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: **Czy PGE₂ zwiększa w warunkach przepływu adhezję płytek krwi do śródbłónka naczyniowego na drodze aktywacji receptora EP₃? Dowody z badań *in vitro* oraz *in vivo*.**

2. Czas trwania projektu 10.10.2017 do 30.03.2018

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) **płytki krwi, obserwacja przyżyciowa, śródbłonek naczyniowy, reaktywność**

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.

Planowane eksperymenty dotyczą badania receptorów prostaglandynowych na powierzchni płytek krwi, określanych jako receptory EP. Badania te skupiają się na jednym z takich receptorów, EP₃, oraz zmierzają do poznania jego roli w regulacji zjawiska fizjologicznego i patofizjologicznego przylegania płytek krwi do komórek śródbłónka naczyniowego, czyli komórek wyściełających od wewnątrz naczynia krwionośne. Płytki krwi na swojej powierzchni posiadają cztery różne typy receptorów EP, a mianowicie: EP₁, EP₂, EP₃ i EP₄. Z danych literaturowych wynika, że aktywacja receptorów EP₁, EP₂ oraz EP₄ wiąże się ze zmniejszeniem „pobudliwości” (reaktywności) płytek krwi,

czyli osłabianiem ich zdolności do reakcji na pojawiający się w środowisku bodziec, który mógłby w niepożądany sposób aktywować procesy krzepnięcia. W odróżnieniu od tych powyższych typów receptorów, uważa się, że z kolei aktywacja receptorów EP₃ na płytkach krwi może nasilać właściwości agregacyjne płytek krwi oraz zwiększać ich zdolność przylegania (adhezji) do komórek śródbłónka naczyniowego. Przeprowadzenie założonych we wniosku badań dotyczących charakterystyki funkcjonalnej receptorów EP₃ wydają się być szczególnie istotne ze względu na potencjalną rolę jaką ta grupa receptorów odgrywa w patologii chorób układu krwionośnego, ze szczególnym uwzględnieniem choroby miażdżycowej.

W zaplanowanym eksperymencie przewidziano wykorzystanie specjalnego modelu myszy, u których spontanicznie rozwija się miażdżycę. Adhezja płytek krwi do komórek śródbłónka u gryzoni będzie obserwowana w czasie rzeczywistym, dzięki wykorzystaniu przyżyciowej mikroskopii fluorescencyjnej. Technika ta pozwala na specyficzne, wysoce swoiste, wybarwienie płynących obiektów, jakimi są płytki krwi, oraz ich obserwację bezpośrednio w naczyniu krwionośnym zwierzęcia. Miejscem obserwacji przylegania płytek do komórek śródbłónka naczyniowego będzie tętnica szyjna, a więc odcinek szczególnie narażony na powstawanie zmian miażdżycowych.

Wierzmy, że wyniki uzyskane w toku przeprowadzonych doświadczeń pozwolą na lepsze zrozumienie roli receptora EP₃ w regulacji niekontrolowanej i niepożądanej adhezji płytek krwi do komórek śródbłónka naczyniowego. Zbadanie tego wątku będzie stanowiło istotny wkład w wiedzę na temat fizjologii płytek krwi. Niewykluczone, że lepsza charakterystyka receptora EP₃, dzięki badaniom *in vivo* z wykorzystaniem modelu zwierzęcego, może przyczynić się do rozwoju nowych terapii przeciwpłytkowych opartych na stosowaniu swoistych inhibitorów tych receptorów.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W planowanym eksperymencie zostanie wykorzystany tylko jeden gatunek gryzoni - **myszy domowa**. Zakłada się, że wśród zwierząt 48 sztuk stanowić będą myszy miażdżycowe szczep Apoe^{tm1Unc}/J, natomiast 24 sztuki zwierząt szczepu C57Bl/J będzie kontrolą w eksperymencie.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Dołożyliśmy wszelkich starań, by oszacować, jaka powinna być najmniejsza liczność grup badanych, która umożliwi wykazanie efektu polegającego na wzroście „pobudliwości” (reaktywności) płytek krwi, która jest zależna od aktywacji receptora EP₃ w mysim modelu miażdżycy. Do tego celu wykorzystaliśmy nasze wcześniejsze obserwacje wskazujące na to: (a) jaka jest zmienność biologiczna i nieprecyzja technik pomiarowych, (b) jak duże zmiany spodziewamy się zaobserwować. Dane te wsparte założeniem o minimalnej mocy statystycznej 0.80 oraz maksymalnym istotności statystycznej, pozwoliły nam na teoretyczne oszacowanie jaka powinna być minimalna liczność grup badanych. Prowadzone badania będą stanowiły kolejny etap projektu Preludium 8 i pozwolą na weryfikację wcześniej przeprowadzonych eksperymentów *in vitro* które przebiegały z wykorzystaniem hodowli ludzkich komórek śródbłonna naczyniowego pochodzenia tętniczego i krwi pobranej od pacjentów.

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