

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: „Potencjalny wpływ kwasu retinowego na funkcję śródbłónka poprzez zmianę fenotypu adipocytów i profilu adipokin wydzielanych z tkanki tłuszczowej okołonaczyniowej w mysim modelu miażdżycy.”

2. Czas trwania projektu: 4 lata.....

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) kwas retinowy, adipokiny, tkanka tłuszczowa okołonaczyniowa, miażdżycy.....

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) A.....

A. Badania podstawowe

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.

Projekt dotyczy badań podstawowych. Celem naukowym doświadczenia jest weryfikacja hipotezy, że podawanie kwasu all-trans retinowego (atRA) może powodować przekształcanie komórek tkanki tłuszczowej okołonaczyniowej (PVAT) z białej (WAT) w brązową tkankę tłuszczową (BAT) i tym samym modulować profil adipokin - cząsteczek wydzielanych z tej tkanki. Dodatkowo zbadane zostaną mechanizmy, przez które adipokiny wydzielane z PVAT mogą wpływać na funkcjonowanie śródbłónka.

Miażdżycę postrzegana jest jako proces zapalny w błonie naczyń tętniczych, zapoczątkowany i rozwijający się pod wpływem hipercholesterolemii. Dzięki zwierzęcemu modelowi miażdżycy - myszy apo E-KO (apoE-knockout), u których nie syntetyzowana jest apolipoproteina E, badanie mechanizmów patogenezы tej choroby stało się łatwiejsze. PVAT wydzielą adipocytokiny o wielokierunkowym działaniu, które odgrywają istotną rolę w funkcjonowaniu naczyń krwionośnych. Aktywacja BAT wydaje się być obiecującym środkiem terapeutycznym w chorobach sercowo-naczyniowych.

Do badań zostaną wykorzystane myszy ApoE i zwierzęta kontrolne. Zwierzęta z obu grup zostaną podzielone dodatkowo na takie, u których wykonywana będzie procedura 1 lub procedura 2.

W okresie aklimatyzacji wykonywana zostanie czynność 1. Czynność 2 będzie wykonywana codziennie przez okres 9 tygodni. Czynność 3 będzie wykonywana codziennie po okresie aklimatyzacji przez 8 tygodni. Czynność 4 wykonana zostanie dwa razy: po okresie aklimatyzacji oraz po 8 tygodniach podawania atRA. Po 9 tygodniach zwierzęta zostaną uśmiercone – czynność 5. Odpowiednie tkanki zostaną wypreparowane. Wykonane zostanie barwienie histochemiczne aorty oraz histoimmunologiczne PVAT. Ponadto wykonana zostanie inkubacja PVAT w medium hodowlanym, gdzie oznaczone zostanie stężenie peptydów. Wykonana zostanie hodowla komórek śródbłónka, w których oznaczone zostanie stężenie, jak również poziom mRNA peptydów. W medium hodowlanym oznaczone zostanie stężenie peptydów.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Doświadczenie przeprowadzone zostanie na dwudziestu czterech 8-tygodnowych myszach ApoE (B6.129P2-ApoEtm1Unc/J) oraz dwudziestu czterech C57BL/6J. Po okresie adaptacyjnym 7 dni, myszy zostaną podzielone losowo na cztery grupy:

1. grupa kontrolna- myszy C57BL/6J (n=12),
2. grupa kontrolna- myszy C57BL/6J + atRA (n = 12),
3. myszy apo E-KO (n=12),
4. myszy apo E-KO + atRA (n = 12).

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy „Potencjalny wpływ kwasu retinowego na funkcję śródbłónka poprzez zmianę fenotypu adipocytów i profilu adipokin wydzielanych z tkanki tłuszczowej okołonaczyniowej w mysim modelu miażdżycy”, sprawdziłam istniejące publikacje w zakresie objętym wnioskiem badawczym. Stwierdziłam, że brak jest danych w zakresie przedstawionego projektu badawczego korzystając z baz danych: PubMed, EBSCO, Web of Science, Agricola, Health Source - Consumer

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

Edition przy wykorzystaniu słów kluczowych: retinoic acid, adipokines, perivascular adipose tissue, atherosclerosis.

Zasadniczym problemem badawczym podejmowanym w niniejszym projekcie będzie określenie czy podawanie kwasu all-trans retinowego (atRA) spowoduje przekształcenie adipocytów białej tkanki tłuszczowej PVAT w brązową tkankę tłuszczową oraz zmieni profil wydzielanych przez nią adipokin w mysim modelu miażdżycy. Ponadto, zbadanie wpływu oraz mechanizmu działania substancji wydzielanych przez PVAT na funkcjonowanie śródbłónka u myszy Apo E^{-/-}. Po wykryciu wielu substancji wydzielanych przez adipocyty, PVAT uznawana jest za jeden z elementów uczestniczących w patogenezie szeregu chorób sercowo-naczyniowych związanych z otyłością. Regulowanie profilu adipokin wydzielanych z PVAT może posłużyć do opracowania strategii terapeutycznych. Dokładniejsze zrozumienie działania atRA na PVAT jest ważne z punktu widzenia ich ewentualnego wykorzystania w leczeniu czy profilaktyce miażdżycy.

Osiągnięcie powyższego celu nie jest możliwe bez wykorzystania zwierząt. Wybrano gatunek o możliwie najniższym poziomie rozwoju. Zasadę redukcji realizuje się poprzez wykorzystanie takiej liczby zwierząt, która jest niezbędna do weryfikacji hipotezy, że podawanie atRA może powodować przekształcanie adipocytów PVAT z białej tkanki tłuszczowej w brązową tkankę tłuszczową i tym samym modulować profil adipokin wydzielanych z tej tkanki. Dodatkowo zweryfikowane zostaną mechanizmy, przez które adipokiny wydzielane z PVAT mogą wpływać na funkcjonowanie śródbłónka w mysim modelu miażdżycy. Ponadto pobrane i zamrożone zostaną dodatkowe tkanki, które w przyszłości posłużą do dalszych analiz.

W celu poprawy dobrostanu zwierząt zastosowano: odpowiednie warunki bytowe dla myszy, handling, wzbogacenia środowiska. Do doświadczenia zamiast metalowych sondy dożołądkowe wykorzystane zostaną plastikowe, które minimalizują ryzyko uszkodzenia organizmu oraz zapewniają proste rozwiązanie do podawania badanej substancji. Miękkie, zaprojektowane końcówki w kształcie kulki pozwalają zmniejszyć ryzyko przypadkowego umieszczenia w tchawicy i perforacji przełyku. Ponadto wszystkie procedury będą wykonywane przez doświadczony i przeszkolony zespół, który przygotuje zwierzęta do technik eksperymentalnych, prawidłowo zaplanuje uśmiercanie oraz w odpowiednich przypadkach zastosuje protokół wcześniejszego humanitarnego uśmiercenia.