

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Wpływ czynnika transkrypcyjnego Nrf2 na transkryptom komórek śródbłónka aorty.

2. Czas trwania projektu 36 miesięcy

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) Nrf2, senescencja, starzenie, aorta, sortowanie komórek śródbłónka aorty, heterogenność komórek śródbłónka aorty

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.

Przedwczesne starzenie się (senescencja) naczyń krwionośnych jest jedną z głównych przyczyn wystąpienia chorób układu krążenia. Dane literaturowe pokazują, że patogeneza tych chorób jest ściśle związana z dysfunkcją komórek śródbłónka. Z drugiej strony, podejrzewa się, że istotną rolę w patogenezie chorób układu krążenia odgrywa czynnik transkrypcyjny Nrf2, jednak molekularne mechanizmy tego zjawiska są nieznane. Warto zauważyć, że do tej pory nie były prowadzone badania jak niedobór Nrf2 wpływa na senescencję komórek śródbłónka. W przeprowadzonych przez nas badaniach pokazaliśmy, że wyciszenie Nrf2 w pierwotnych ludzkich komórkach śródbłónka aorty (HAEC, ang. human aortic endothelial cells) indukuje przedwczesną senescencję. Obserwacje te potwierdziliśmy również na modelu mysim. Niemniej jednak, wciąż nie wiemy jak te zmiany wpływają na funkcję naczyń krwionośnych. Analiza transkryptomu komórek śródbłónka pozwoli na określenie potencjalnych mechanizmów regulujących starzenie się układu krążenia.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Mysz domowa, 80 osobników

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

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

Przygotowując projekt badawczy, sprawdzono istniejącą literaturę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazie danych Pubmed, posługując się słowami kluczowymi: Nrf2, senescencja, starzenie, śródbłonek, izolacja komórek śródbłonna aorty.

Badania przedstawione w obecnym wniosku zostaną przeprowadzone z zastosowaniem zasady 3R (replacement, reduction, refinement).

ZASTĄPIENIE: W badaniu wykorzystane zostaną myszy transgeniczne z wyciszoną aktywnością transkrypcyjną Nrf2, co zastąpi farmakologiczną inhibicję Nrf2, która ma ograniczoną skuteczność, wiąże się z wprowadzeniem dodatkowych procedur w doświadczeniu (m.in.. kilkukrotną iniekcją zwierząt). Zatem wykorzystanie myszy z niedoborem Nrf2 pozwoli na uzyskanie wiarygodnych wyników przy minimalnej liczbie zwierząt w doświadczeniu. W badaniach wykorzystamy dorosłe myszy dzikie i pozbawione Nrf2 w wieku 2 oraz 12 miesięcy. Tkanki będą również udostępniane na terenie Użytkownika uwzględniając zasady zastąpienia w doświadczeniach

OGRANICZENIE: W pojedynczym eksperymencie na każdą grupę przypadac będzie 8 myszy. Dotychczas przeprowadzone doświadczenia podobnego typu pozwoliły stwierdzić, że ta liczebność zwierząt jest minimalną, ale jednocześnie wystarczającą do przeprowadzenia odpowiedniej statystyki. Materiał ze zwierząt będzie wykorzystywany do szeregu analiz, takich jak barwienia immunofluorescencyjne, analiza ekspresji genów i poziomu białka, barwienia immunohistochemiczne.

UDOSKONALENIE: Zwierzęta użyte do doświadczeń pochodzą z hodowli zwierzętarni wydziałowej, a w trakcie trwania eksperymentów będą pod stałą opieką weterynaryjną, a wykonywane na nich procedury będą przeprowadzone przez doświadczonych osoby. Pozwoli to na przeprowadzenie badań z ograniczonym do minimum stresem czy też bólem. Środowisko myszy zostanie wzbogacone o materiał gniazdujący oraz klocki drewniane, co zapewni im urozmaicenie otoczenia oraz przyczyni się do poprawy ich dobrostanu. Głównym celem przeprowadzenia opisanych we wniosku badań określenie wpływu starzenia oraz roli czynnika transkrypcyjnego Nrf2 na transkryptom komórek śródbłonna aorty. Ponadto, chcemy zwrócić uwagę na zależną od wieku heterogenność komórek śródbłonna aorty. Uzyskane dane będą miały duże znaczenie poznawcze, ze względu na innowacyjność, będą prezentowane podczas konferencji międzynarodowych oraz publikowane w czasopiśmie o wysokiej randze.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną²

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

² Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.