

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: „Ocena mechanizmu prozakrzepowego działania aldosteronu w modelu zakrzepicy indukowanej chlorkiem żelaza u myszy z wykorzystaniem metody przyżyciowej mikroskopii konfokalnej”

2. Czas trwania projektu: 02.01.2019 - 02.01.2023 r.

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) aldosteron, zakrzepica, płytki krwi, śródbłonek

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.

Doniesienia ostatnich lat sugerują, że aldosteron zwiększa ryzyko incydentów zakrzepowozatorowych. Wyniki naszych ostatnich badań przeprowadzonych w modelu zakrzepicy indukowanej laserem u myszy wykazały, że aldosteron nasila proces zakrzepowy. Zastosowany model badawczy pozwolił na przyżyciową obserwację pierwszego etapu formowania zakrzepu, jednak nie udało nam się wyjaśnić dokładnego mechanizmu działania hormonu. Otrzymane wyniki skłaniają nas do poszerzenia panelu badań, głównie w kierunku zbadania dokładnego wpływu hormonu na płytki krwi i komórki śródbłonek - kluczowe komponenty regulujące proces zakrzepowy. Dlatego też celem projektu jest szczegółowa ocena mechanizmu prozakrzepowego działania aldosteronu w modelu zakrzepicy indukowanej chlorkiem żelaza u myszy z wykorzystaniem przyżyciowej mikroskopii konfokalnej. Model ten umożliwia identyfikację poszczególnych struktur płytkowych i śródbłonkowych zaangażowanych w zakrzepicę. Ponadto, dane literaturowe donoszą, że działanie aldosteronu w układzie krążenia może odbywać się w mechanizmie związanym z aktywacją klasycznego receptora

mineralokortykoidowego (MR), ale także częściowo przy udziale receptora estrogenowego GPR30. W proponowanym projekcie ta hipoteza zostanie zweryfikowana. Zatem w planowanych badaniach określony zostanie wpływ aldosteronu na proces zakrzepowy i aktywność wybranych struktur na powierzchni płytek krwi lub ściany naczynia krwionośnego, a także wpływ antagonistów receptora MR i GPR30 na wywołany przez aldosteron efekt. Poznanie szczegółowego mechanizmu prozakrzepowego działania aldosteronu pozwoli w przyszłości na skuteczną farmakoterapię powikłań zakrzepowych pojawiających się w przebiegu chorób układu sercowo-naczyniowego z towarzyszącym podwyższonym stężeniem aldosteronu. Eksperymenty są terminalne i nie spowodują szkód u badanych zwierząt. Dodatkowo, prowadzone będą w pełnym znieczuleniu, co maksymalnie ograniczy ból i dyskomfort zwierząt.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

252 szt, samce, myszy szczepu C57BL/6cmdb

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłam istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych: EBSCO; PUBMED; Google Scholar; AGRICOLA; Science Direct; Web of Science (JCR). Wykorzystałam słowa kluczowe: thrombosis, aldosterone, platelets, endothelium, GPR30, eplerenon. W dostępnej literaturze nie znalazłam danych dotyczących wpływu aldosteronu na zakrzepicę i składowe układu hemostazy, co skłania do zbadania wpływu hormonu na proces zakrzepowy, płytki krwi i komórki śródbłónka. Proponowany projekt umożliwi dokładne zbadanie mechanizmu prozakrzepowego działania aldosteronu ze szczególnym uwzględnieniem procesu aktywacji płytek krwi i powstawania fibryny. Niewątpliwie, najistotniejszym elementem badań będą uzyskane rezultaty, które potencjalnie pozwolą ograniczyć znaczną obecnie śmiertelność wynikającą z powikłań zakrzepowych w przebiegu chorób układu sercowo-naczyniowego.

Zaplanowane badania dotyczą modeli eksperymentalnych prowadzonych *in vivo*, których nie da się w żaden sposób zastąpić modelami *in vitro*. Podobnie, niemożliwe jest już udoskonalenie zaplanowanych metod eksperymentalnych, ponieważ zostały one wystandaryzowane tak, aby do minimum zredukować poziom stresu i bólu u zwierząt badanych. Zaplanowana procedura jest terminalna, a stosowane czynności w ramach zaplanowanej procedury nie wywołają u zwierząt bólu, ponieważ są krótkotrwałe i przeprowadzane są w znieczuleniu ogólnym. W przypadku pojawienia się alternatywnych procedur (zadowalających pod względem naukowym), zastąpią one procedury zaplanowane w badaniu, z zastrzeżeniem, że nie będzie to miało wpływu na wiarygodność uzyskanych dotychczas wyników. W przypadku zasady zmniejszenia liczby użytych zwierząt, użyta przez nas metoda mikroskopii

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

konfokalnej daje wysoce powtarzalne wyniki co umożliwia zredukowanie do minimum liczby myszy. Liczebność grup zwierząt została dobrana na podstawie przeglądu literatury oraz doświadczenia osób planujących i wykonujących badania. Dzięki zastosowanym w projekcie metodom dającym wysoce powtarzalne wyniki możliwe jest zredukowanie do minimum liczby myszy. Badania planowano tak, aby moc statystyczna testu wynosiła co najmniej 80%, w zależności od rodzaju rozkładu zmiennych zastosowany też zostanie zalecany w tego typu test statystyczny parametryczny bądź nieparametryczny. Zaplanowane w badaniach kolejne czynności w poszczególnych procedurach zostaną przeprowadzone z bezwzględnym zastosowaniem wszelkich postępowań ograniczających w jakimkolwiek stopniu cierpienie zwierząt. Istotnym faktem zapewniającym dobrostan zwierząt jest wieloletnie doświadczenie w pracy ze zwierzętami laboratoryjnymi (myszy) eksperymentatorów z zespołu badawczego.

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.