

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu Wpływ tkankowo specyficznych miRNA na termogenezę w brązowej tkance tłuszczowej u myszy

2. Czas trwania projektu 1.06.2019 – 31.09.2019

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) termogeneza, miRNA, brązowa tkanka tłuszczowa, chłód, agonista receptora  $\beta 3$ -adrenergicznego

4. Cel projektu (art. 3 ustawy) (wpisać odpowiednią kategorię z poniższych) Badania 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 doświadczenia jest identyfikacja tkankowo specyficznych miRNA odpowiadających za regulację termogenezy niezwiązanej z pracą mięśni w brązowej tkance tłuszczowej. Termogeneza jest istotnym zjawiskiem dla utrzymania wydajności procesów przeżyciowych w warunkach obniżonej temperatury otoczenia. MiRNA należą do grupy niekodujących, krótkich cząsteczek rybonukleinowych, których zadaniem jest zablokowanie syntezy białek. Ich funkcja regulacyjna w organizmie została potwierdzona wielokrotnie, również w naszej pracowni.

W celu identyfikacji istotnych miRNA dla procesu termogenezy posłużymy się dzikimi myszami oraz transgeniczną linią myszy, u których możemy indukować usunięcie miRNA w tkance tłuszczowej. Istotne będzie także ustalenie dynamiki samego procesu termogenezy, w celu wyodrębnienia charakterystycznych punktów czasowych, z których dane będziemy prezentować. Indukowanie termogenezy zależnej od BAT następuje zawsze na skutek aktywacji specyficznych receptorów. Aktywacja może być spowodowana niską temperaturą lub działaniem specyficznego agonisty. W badaniu planujemy zadziałać na receptory na obydwie

sposoby, ze względu na ewentualne różnice w odpowiedzi metabolicznej organizmu na różne stymulanty, mogące wynikać z różnic w temperaturze otoczenia. Zgodnie z danymi literaturowymi aktywacja termogenezy na obydwu sposoby nie prowadzi do długotrwałego dystresu i cierpienia zwierząt.

W doświadczeniach zarówno zwierzęta dzikie, jak i transgeniczne zostaną poddane aktywacji w celu wywołania termogenezy. Od momentu aktywacji poddamy je obserwacji metabolicznej w klatkach metabolicznych oraz z wykorzystaniem kamery termowizyjnej i termometru rektalnego, w celu określenia dynamiki procesu i zaobserwowania różnic pomiędzy zwierzętami zmienionymi genetycznie i myszami kontrolnymi. Następnie kolejne (nowe) grupy zwierząt dzikich i transgenicznych zostaną poddane aktywacji termogenicznej i ostatecznie poddane eutanazji w wyodrębnionych już uprzednio punktach czasowych. Pozwoli to na dalszą analizę metaboliczną metodami biologii molekularnej, ustalenie zmian w profilu miRNA w brązowej tkance tłuszczowej oraz ustalenie mechanizmu działania zmienionych miRNA, zaangażowanych w termoregulację.

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

Liczba: 192

Gatunek: mysz C57Bl/6J

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

Przygotowując projekt badawczy, sprawdziłem istniejącą wiedzę w zakresie objętym wnioskiem badawczym, w bazach danych Pubmed, ScienceDirect, Web of Science (JCR)

Wykorzystałem słowa kluczowe: non-shivering thermogenesis, brown adipose tissue,  $\beta$ 3-adrenergic receptor agonist, temperature measurement, miRNA and thermogenesis, metabolism during cold exposure, metabolism and thermogenesis

Na podstawie przeszukania istniejącej literatury, stwierdzam że:

A. Nagromadzony materiał badawczy pozwala na stwierdzenie, że zarówno podawanie agonisty jak i niska temperatura nasilają termogenezę poprzez aktywację receptorów  $\beta$ 3-adrenergicznych. Konsekwencje tej aktywacji pod kątem metabolizmu mogą być jednak odmienne ze względu na warunki termoneutralne (w przypadku działania agonisty) lub brak termoneutralności (niska temperatura). Stwierdza się również udział miRNA w różnicowaniu się komórek brązowej tkanki tłuszczowej.

B. Brak jest danych na temat tego jak konkretnie zmienia się ogólny profil miRNA w trakcie procesu termogenezy oraz jak ewentualne zmiany w tym profilu (jeśli występują) wpływają na funkcjonowanie tego procesu.

Uzyskanie danych z proponowanego projektu pozwoli na:

A/ Rozwinięcie teoretyczne/poznawcze istniejącej wiedzy na temat regulacji termogenezy niezwiązanej z pracą mięśni przez miRNA oraz różnic na poziomie metabolicznym w termogenezie uruchamianej w warunkach

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

termoneutralnych oraz braku termoneutralności.

B/ Zastosowanie uzyskanej wiedzy polegające np. na działaniach mających na celu zwalczanie nadwagi i otyłości z uwagi na ścisły związek między procesem termogenezy i koniecznością wydatkowania do tego procesu kwasów tłuszczowych, pochodzących z magazynu lipidów w tkance tłuszczowej.

Mając na uwadze dobrostan zwierząt bezwzględnie będziemy stosowali zasadę 3 R, wprowadzoną w 1959 roku przez Williama Russela i Rexa Burcha, przede wszystkim, w celu możliwego ograniczenia liczby używanych zwierząt czy ograniczenia materiału badawczego.

### **ZASTĄPIENIE**

Ze względu na cel badawczy nie można zastąpić modeli zwierzęcych metodami in vitro takimi jak hodowle komórkowe czy tkankowe. W przypadku hodowli niezbędne jest zachowanie ściśle określonych warunków dla rozwoju komórek. Aby w ogóle aktywować proces termogenezy konieczna jest manipulacja tymi warunkami (np. niska temperatura otoczenia), zaś żeby komórka przetrwała oczekiwany wzrost temperatury (w warunkach termoneutralnych, np. po podaniu agonisty) musi ona skutecznie oddawać ciepło do otoczenia, co może być utrudnione w warunkach hodowli komórkowej czy tkankowej. Także dynamika procesów metabolicznych (biochemicznych) jest zazwyczaj wypadkową działania wielu tkanek aniżeli tylko tej jednej, na której badacz skupia uwagę.

### **OGRANICZENIE**

Do osiągnięcia celu badawczego zredukowaliśmy liczbę zwierząt do minimum, które jest wymagane w analizach statystycznych mających na celu uzyskanie odpowiedzi na postawiony problem badawczy.

### **UDOSKONALENIE**

Wszystkie procedury eksperymentalne są tak zaplanowane aby przysparzały zwierzętom mniej cierpień. Do klatek standardowych dodawane są przedmioty wzbogacające środowisko (klocki do ścierania zębów, bawełniane kokony do budowy gniazda, tunele z celulozy). Zwierzęta mają zapewniony cykl całodobowy (12h światła, 12h ciemności). Przez znaczną część czasu zwierzęta przebywają z dala od personelu co zmniejsza poczucie stresu. Zwierzęta usypiane są przez wziewne podanie izofluranu i następujące po tym szybkie przerwanie rdzenia.

## 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.