

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Rola czynnika transkrypcyjnego Foxn1 w procesie gojenia urazów skóry – od gojenia naprawczego z wytworzeniem blizny, poprzez bezbliznową regenerację aż do nie gojących się ran u chorych na cukrzycę.

2. Czas trwania projektu od 3 stycznia 2019 do 3 grudzień 2020.

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów): skóra, gojenie ran, blizna, regeneracja, czynnik Foxn1.

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

A 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.

Zraniona skóra dorosłych ssaków goi się w procesie naprawczym (reparacyjnym), którego efektem jest wytworzenie blizny. Fenomenem w świecie dorosłych ssaków jest szczególny szczep myszy tzw. myszy nagie (pozbawione czynnika transkrypcyjnego Foxn1), których urazy skóry podlegają procesowi regeneracji (gojenie bezbliznowe). Jednakże przyczyny tych różnic, jak i mechanizmy leżące u ich podstaw w dalszym ciągu pozostają nieznane. Nasze badania wskazują, że czynnik Foxn1 jest podstawowym elementem odpowiedzialnym za wytworzenie blizny, a jego aktywność może być zależna od wieku i statusu metabolicznego (otyły vs szczupły). Prezentowany projekt zakłada, iż bliznowe

procesy naprawcze urazów skórnych są regulowane poprzez zmiany w aktywności czynnika transkrypcyjnego Foxn1 w zależności od wieku i statusu metabolicznego/diety (otyły vs szczupły). Proponowany projekt jest unikatowy, a osiągnięte wyniki mogą umożliwić ukierunkowaną ingerencję w proces gojenia. Uzyskane wyniki na modelu mysim będą podstawą do analiz w tkankach ludzkich, ponieważ Foxn1 wykazuje tę samą lokalizację u obu gatunków. Model badawczy będą stanowiły: myszy transgeniczne Foxn1-eGFP, u których aktywność Foxn1 jest monitorowana fluorescencyjną aktywnością białka eGFP oraz myszy kontrolne. W projekcie planujemy 8-tygodniowe żywienie myszy dietą wysoko- lub niskotłuszczową, a następnie wytworzenie ran, które odbędzie się poprzez wycięcia fragmentów (4x4mm średnicy) skóry grzbietu. Jednorazowa dootrzewnowa iniekcja 5-bromo-2-deoksyurydyny (BrdU) zostanie zastosowana w celu wykazania różnic w procesach migracji i proliferacji komórek w zranionej skórze. Wszystkie procedury będą przeprowadzone pod całkowitą narkozą. Tkanki pourazowe będą zbierane post mortem w dniach 1, 3, 5, 7, 14 i 21. Z naszych doświadczeń wynika, że myszy dobrze reagują na wziewne podanie izofluranu, a rany pooperacyjne goją się bez komplikacji.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

W planowanym doświadczeniu wykorzystamy myszy w liczbie n=146
w tym: myszy Foxn1-eGFP n= 73 + myszy C57BL/6 n=73.

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Zasada zastąpienia – naszej przeprowadzone i opublikowane badania wykazały, iż czynnik Foxn1 jest podstawowym elementem odpowiedzialnym za wytworzenie blizny w pourazowej skórze. Natomiast wyniki uzyskane w trakcie badań na modelu myszy nagich (pozbawionych Foxn1) wskazują na unikatowe zdolności tych myszy do gojenia bezbliznowego (regeneracji). Ponadto zaobserwowano, iż myszy nage wykazują niezdolność do wywołanej dietą otyłości, co również zostało zaobserwowane w naszych badaniach nad myszami heterozygotycznymi Foxn1-eGFP (nieaktywny jeden allel Foxn1). W ramach badań na komórkach (*in vitro*) wykazaliśmy, że czynnik Foxn1 zmienia charakterystykę fibroblastów skóry przyspieszając proces ich różnicowania w kierunku komórek tłuszczowych. Pomimo tego, że analizy *in vitro* są bardzo pomocne i informatywne nie odwzorują one złożoności procesów

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

zachodzących w organizmie żywym (gojenia urazów skóry). Wykazanie czy Foxn1 odpowiedzialny za gojenie bliznowe jest stymulowany dietą i/lub zależny od wieku osobniczego może być przeprowadzone jedynie *in vivo* z zastosowaniem myszy jako modelu.

Zasada ograniczenia – liczba zwierząt (146), która została zaplanowana do doświadczeń została ograniczona do minimum, jakkolwiek pozwalająca na uzyskanie wyników istotnych statystycznie. Uzyskane uprzednio i opublikowane wyniki naszych badań na modelu myszy oraz na dwóch modelach zranienia: nacięcia i wycięcia wykazały, że liczba n=6 osobników w grupie pozwala na osiągnięcie istotności statystycznej.

Zasada doskonalenia – Zwierzęta będą przetrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich bytowania. Procedury ranienia oraz iniekcji dootrzewnowych zostaną przeprowadzone w anestezji zgodnie z zasadami sztuki lekarskiej z zastosowaniem środków przeciwbólowych po zabiegu. Wszelkie czynności związane z anestezją, ranieniem i humanitarnym uśmiercaniem będą wykonywane zgodnie z przyjętymi zasadami obowiązującej Dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady 2010/63/UE, przez odpowiednio przeszkolony personel z długoletnim stażem pracy ze zwierzętami laboratoryjnymi.

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.