

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektuIndukcja kardiomiopatii poprzez ćwiczenia wysiłkowe w mysim modelu dystrofii mięśniowej Duchenne’a
2. Czas trwania projektu24 miesiące
3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) ...kardiomiopatia, dystrofia mięśniowa Duchenne’a, mdx
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.

Dystrofia mięśniowa Duchenne’a (DMD – z ang. *Duchenne muscular dystrophy*) to nieuleczalna jak dotąd choroba genetyczna związana z brakiem funkcjonalnego białka dystrofiny. Postępujący zanik mięśni i niewydolność sercowo-oddechowa są przyczyną śmierci chorych w młodym wieku. Rozwój choroby wiąże się z występowaniem kardiomiopatii już na wczesnych etapach DMD (u 25% chłopców w wieku 6 lat obecne są już objawy), stąd niezwykle istotne jest poznanie mechanizmów odpowiedzialnych za upośledzenie funkcjonowania kardiomiocytów pozbawionych dystrofiny. W mysim modelu choroby, tzw. myszach *mdx*, w przeciwieństwie do osób z DMD, rozwój kardiomiopatii jest zauważalny dopiero w bardzo późnym wieku. W przypadku młodszych myszy możliwe jest wywołanie kardiomiopatii poprzez trening fizyczny, w tym ćwiczenia wysiłkowe na bieżni.

Celem badań jest weryfikacja protokołu wywołania kardiomiopatii u myszy *mdx* stanowiących model badania choroby DMD. Realizacja tych badań i uzyskane wyniki pozwolą na uzyskanie modelu

kardiomiopatii u myszy *mdx* i będą punktem wyjścia do kolejnych projektów związanych z badaniem wpływu określonych genów na rozwój DMD oraz opracowywaniem nowych terapii. Wyniki te przyczynią się do lepszego zrozumienia patogenezy DMD, a tym samym mogą mieć potencjalne znaczenie praktyczne.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Gatunek zwierząt - Mysz domowa (*Mus musculus*)

Liczba zwierząt - 40

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA

Zastosowanie zasad 3R:

Replace (zastąpienie): zaplanowane badania nie mogą zostać przeprowadzone poza żywym organizmem; W celu zbadania mechanizmów kardiomiopatii w dystrofii mięśniowej Duchenne’a (DMD) konieczne jest użycie modelu zwierzęcego. Myszy *mdx*, posiadające mutację w genie dystrofiny, są podstawowym modelem patogenezy DMD, stosowanym rutynowo w tego typu badaniach.

Reduce (ograniczenie): liczba zwierząt została ograniczona do minimalnej liczby potrzebnej do uzyskania statystycznie istotnych wyników. Planujemy wykorzystać po 20 myszy na grupę— liczebność grup ustalono w oparciu o nasze wcześniejsze doświadczenie i szacunki statystyczne biorąc pod uwagę ewentualną konieczność wczesnego, humanitarnego zakończenia procedury i uśmiercenia myszy zgodnie z punktem 10. wniosku.

Taka analiza i liczebność grup pozwoli na rzetelne określenie potencjalnych zmian związanych z wywołaną kardiomiopatią i umożliwi przeprowadzenie dalszej, kompleksowej analizy (analizy biochemiczne, histologiczne i immunohistochemiczne). Zaplanowano analizy na kilku poziomach – na poziomie organizmu, tkanek oraz na poziomie molekularnym. Kompleksowe podejście do badań pozwala na maksymalizację danych uzyskiwanych z każdego zwierzęcia. Planujemy zbadanie myszy zgodnie z opublikowanym protokołem (myszy 12-tygodniowe poddane 12-tygodniowemu treningowi i odpowiadające im 24-tygodniowe myszy kontrolne) Łącznie do przeprowadzenia tego doświadczenia wykorzystamy 40 myszy (samców).

Refine (udoskonalenie): wykorzystywane zwierzęta są utrzymywane w warunkach SPF, w wentylowanych klatkach, a metody badawcze zastosowane w procedurach zostały wybrane tak, aby ograniczały do minimum albo eliminowały ból i cierpienie.

Materiał od zwierząt (krew obwodowa oraz narządy) będzie wykorzystany do szeregu analiz, takich jak analizy biochemiczne, analizy histologiczne i immunohistochemiczne oraz analizy ekspresji genów i białek. Tkanki będą również udostępniane innym badaczom. Badania pobranego materiału będą wykonane nowoczesnymi metodami (analizy transkryptomu metodą sekwencjonowania nowej generacji, sortowanie komórek pierwotnych, analizy cytometryczne).

Wykorzystane zwierzęta będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla myszy, a metody badawcze zastosowane w procedurach zostały wybrane tak, aby ograniczyć do minimum ból i stres zwierząt. Zwierzęta znajdować się będą pod opieką wykwalifikowanego personelu, w bardzo dobrych warunkach, przy zastosowaniu humanitarnej eutanazji.

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną

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