

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu ...Wpływ zwiększonej ekspresji oksygenazy hemowej-1 w komórkach satelitarnych na patogenezę dystrofii mięśniowej Duchenne'a w modelu mysim.
 2. Czas trwania projektu ..24 miesiące.....
 3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów)dystrofia mięśniowa, oksygenaza hemowa-1, komórki satelitarne
 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.

Celem projektu jest zbadanie wpływu zwiększonej ekspresji oksygenazy hemowej-1 w komórkach satelitarnych na patogenezę dystrofii mięśniowej Duchenne'a (DMD) w modelu mysim. Dystrofia mięśniowa Duchenne'a (DMD – *Duchenne muscular dystrophy*) to nieuleczalna jak dotąd choroba genetyczna spowodowana brakiem funkcjonalnego białka dystrofiny, spowodowanym mutacją w jego genie, i objawia się uszkodzeniem i degeneracją mięśni szkieletowych. Komórki macierzyste mięśni szkieletowych tzw. komórki satelitarne odgrywają kluczową rolę w regeneracji uszkodzonego mięśnia. Ich funkcjonowanie jest zaburzone w DMD. Dotychczasowe badania sugerują protekcyjny wpływ oksygenazy hemowej-1 (HO-1, kodowanej przez gen *Hmox1*) na progresję DMD u myszy. Podwójne nokauty (*Hmox1*^{-/-mdx}) wykazywały osłabioną wydolność wysiłkową w porównaniu do myszy mdx. Nasze badania dowodzą obniżonej ekspresji *Hmox1* w komórkach satelitarnych i sugerują wpływ HO-1 na ich funkcje. W celu weryfikacji roli HO-1 w patogenezie DMD do badań użyjemy

myszy mdx z indukowalną ekspresją HO-1 w komórkach satelitarnych. Realizacja badań planowanych we wniosku i uzyskane wyniki uzupełnią nasze wcześniejsze doświadczenia i mogą przyczynić się do lepszego zrozumienia patogenezy DMD, a tym samym mają potencjalne znaczenie praktyczne.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Gatunek zwierząt - Mysz domowa (*Mus musculus*)

Liczba zwierząt - 40, płeć zwierząt- samce

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 wpływu zwiększonej ekspresji oksygenazy hemowej-1 w komórkach satelitarnych na patogenezę 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. Aby odpowiedzieć na pytanie dotyczące wpływu zwiększonej ekspresji oksygenazy hemowej-1 w komórkach satelitarnych na patogenezę DMD najlepszym rozwiązaniem jest użycie szczepu myszy mdx z oflankowanym genem oksygenazy hemowej-1 (HMOX1) włączonym do locus ROSA (KI - myszy knock-in) oraz porównanie ich do odpowiednich kontroli. Zastosowanie systemu z indukowalną przez tamoksyfen ekspresją rekombinazy Cre w komórkach satelitarnych (pod kontrolą promotora Pax7) umożliwia komórkowo-specyficzne zwiększenie ekspresji oksygenazy hemowej-1 po podaniu tamoksyfenu.

Reduce (ograniczenie): liczba zwierząt została ograniczona do minimalnej liczby potrzebnej do uzyskania statystycznie istotnych wyników. Łącznie do przeprowadzenia tego doświadczenia wykorzystamy 40 myszy (samców). 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 oraz wydajność uzyskania nadekspresji HO-1 poprzez iniekcję tamoksyfenem.

Taki rodzaj grup pozwoli na rzetelną weryfikację wpływu zwiększonej ekspresji HO-1 w komórkach satelitarnych na zdolności wysiłkowe myszy dystroficznych 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. Wszystkie myszy będą poddane testowi wysiłkowemu na bieżni i dokonujemy porównania pomiędzy genotypami.

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 bóle cierpienie. Warunki życia zwierząt doświadczalnych, przenoszenie oraz czynności badawcze są prowadzone przez wyspecjalizowany personel. Badania będą wykonywane metodami powszechnie stosowanymi w tej dziedzinie. Badania pobranego materiału będą wykonane nowoczesnymi metodami (analizy transkryptomu metodą sekwencjonowania nowej

generacji, sortowanie komórek pierwotnych, analizy cytometryczne).

8. Projekt jest objęty oceną retrospektywną

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