

NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu „Rola MCPIP1 w procesie podwójnego stanu zapalnego skóry oraz gojeniu ran”

2. Czas trwania projektu 4 lata

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) MCPIP1, skóra, gojenie ran, stan zapalny, Zc3h12a

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.

Skóra zapewnia pierwszą barierę pomiędzy ciałem a otoczeniem. Składa się ona z naskórka, skóry właściwej oraz tkanki podskórnej. Naskórek zbudowany jest z kilku warstw, które odpowiedzialne są za prawidłowe funkcjonowanie tej tkanki. Najliczniejszy typ komórek obecny w naskórku to keratynocyty, jednakże poszczególne warstwy naskórka są również skolonizowane przez komórki odpornościowe. Deregulacja któregośkolwiek z czynników biorących udział w odpowiedzi zapalnej oraz zachwianie równowagi pomiędzy komponentami skóry a środowiskiem mikrobiologicznym jest główną przyczyną rozwoju chorób skóry o podłożu stanu zapalnego, takich jak trudno gojące się rany czy łuszczyca. Dodatkowo coraz częstsze występowanie chorób cywilizacyjnych, takich jak miażdżyca, cukrzyca oraz starzejące się społeczeństwo przyczynia się do rozwoju chorób skóry. Wiele modulatorów odpowiedzi zapalnej odgrywa istotną rolę w utrzymaniu prawidłowej homeostazy naskórka. Białko MCPIP1, kodowane przez gen *ZC3H12A* jest negatywnym regulatorem stanu zapalnego dzięki swojej aktywności RNazy. Aktywność ta pozwala na degradację cytokin prozapalnych takich jak IL-1 β , IL-6. W celu dokładnego zbadania roli MCPIP1 w procesie podwójnego stanu zapalnego oraz gojeniu ran, niezbędne jest opracowanie modelu mysiego.

Celem projektu jest określenie szczegółowej roli MCPIP1 w procesie podwójnego stanu zapalnego skóry oraz gojeniu ran. W projekcie wykorzystane zostaną myszy pozbawione genu *Zc3h12a* kodującego MCPIP1 w naskórku. W ramach projektu wykorzystane zostaną komplementarne metody zaadaptowane do badań rozwoju stanu zapalnego skóry, takie jak indukcja mysiego modelu łuszczycy za pomocą kremu imikwimod oraz myszy model gojenia ran. W trakcie doświadczenia będzie monitorowany stan rozwoju stanu zapalnego skóry oraz dynamika gojenia ran. Po zakończeniu eksperymentów pobrane tkanki zostaną przekazane do dalszych badań biochemicznych, histologicznych.

6. LICZBA ORAZ GATUNKI ZWIERZĄT PLANOWANYCH DO WYKORZYSTANIA W DOŚWIADCZENIU

Gatunek: *Mus musculus*

Szczep: C57BL/6N

Planowana sumaryczna ilość wykorzystanych zwierząt: 416

7. OPIS UWZGLĘDNIENIA ZASAD ZASTĄPIENIA, OGRANICZENIA I UDOSKONALENIA¹

Zasada zastąpienia: Przed zaplanowaniem całego doświadczenia sprawdzono dostępną, istniejącą już wiedzę dotyczącą tematyki poruszanej we wniosku badawczym. Informacji szukano w bazach danych takich jak: PUBMED, Google Scholar, ScienceDirect oraz Web of Science (JCR).

Zastosowane słowa kluczowe: Skin diseases/Keratinocytes proliferation/psoriasis mouse model/skin inflammation/psoriasis/skin inflammation/IMQ/ imikwimod/MCPIP1/Zc3h12a/wound healing

Dokonując szczegółowej analizy istniejących danych stwierdzono, że

- zastosowanie mysich modeli jest bardziej uzasadnione niż wykorzystanie linii komórkowych, które w pełni nie odzwierciedlają złożoności procesów zachodzących w skórze.

- z dotychczasowej wiedzy wynika, że białko MCPIP1 jest zlokalizowane w warstwie granularnej naskórka, a jego poziom wzrasta w trakcie różnicowania ludzkich pierwotnych keratynocytów. Ponadto, białko MCPIP1 jako RNaza ma kluczowe znaczenie w kontroli proliferacji i migracji keratynocytów.

- dodatkowo, wykazano, że poziom białka MCPIP1 jest zaburzony w skórze łuszczycowej pobranej od pacjentów. Wykazano również, że poziom mRNA MCPIP1 u myszy z wyindukowaną łuszczycą jest podwyższony, z kolei jego poziom spada u myszy pozbawionych receptorów dla IL-17.

- do tej pory liczne badania nad nowotworowymi liniami komórkowymi (neuroblastoma, ccRCC) wykazały, że białko MCPIP1 ma istotny wpływ na progresję nowotworową wpływając na proliferację, migrację, wzrost komórek, a także ich metabolizm oraz procesy angiogenezy.

Myszy model pozbawiony genu *Zc3h12a* w całym organizmie stanowi pewne ograniczenia, ponieważ myszy te spontanicznie rozwijają stan zapalny i umierają w 12-tygodniu życia. Dlatego, w tym projekcie stworzyliśmy unikatowy myszy model posiadający warunkowo wyłączony gen *Zc3h12a* w keratynocytach warstwy bazalnej naskórka.

Zasada ograniczenia: W badaniach zaplanowano wykorzystanie optymalnej liczby zwierząt, tak aby jak najlepiej uzyskać wiarygodne wyniki oraz prawidłową statystykę. Zaplanowana maksymalna ilość zwierząt w eksperymencie pozwoli uzyskać materiał wystarczający na wszystkie zaplanowane analizy biochemiczne, histologiczne oraz molekularne.

Zasada udoskonalenia: Zwierzęta będą przebywały w bardzo dobrych warunkach, w zwierzętarni o

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

standardzie SPF (ang. specific pathogen free-zwierzęta wolne od specyficznych patogenów występujących i danego gatunku). Wszystkie zwierzęta będą utrzymywane w kontrolowanych warunkach otoczenia (cykl światło/ciemność: 14/10h; temp.: 22 +/-2°C; wilgotność: 55+/-10%, wynikająca z wilgotności pomieszczenia: 55%; liczba (krotność) wymiany powietrza w pomieszczeniu: 20/h, zwierzęta przetrzymywane są w klatkach IVC). W trakcie eksperymentów zwierzęta będą miały nieograniczony dostęp do wody i pożywienia. Zwierzęta będą utrzymywane w grupach po 4-5 osobników w zależności od płci (oddzielnie samce i samice). Przed rozpoczęciem eksperymentu zwierzęta będą poddane handlingowi i przyzwyczajone do eksperymentatora w celu minimalizacji stresu.

Powyższe argumenty umacniają zasadność wykorzystania myszy pozbawionych ekspresji genu *Zc3h12a* w naskórku jako jednego z modeli służącego do badania wpływu białka MCP1 na procesy patofizjologiczne zachodzące w skórze. Uzyskanie danych z proponowanego projektu umożliwi nam pogłębienie wiedzy w zakresie nie tylko funkcji białka MCP1, ale także na temat funkcjonowania naskórka i przede wszystkich zaburzeń zachodzących w skórze co w przyszłości może pomóc w opracowaniu nowych strategii terapeutycznych przeciwko chorobą skóry o podłożu stanu zapalnego.

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.