

# NIETECHNICZNE STRESZCZENIE DOŚWIADCZENIA

1. Tytuł projektu: Indukcja atrofia mięśni szkieletowych kończyny tylnej myszy

2. Czas trwania projektu: 01.07.2019 - 01.10.2019

3. Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów) atrofia mięśni szkieletowych, atrofia indukowana

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

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.

Projekt ma charakter projektu pilotażowego, w trakcie eksperymentu sprawdzona zostanie skuteczność protokołu indukcji atrofia.

Atrofia jest procesem zaniku mięśni szkieletowych. Może być wywołana chorobą taką jak nowotwór (kaczeksia), starzeniem się (sarkopenia) bądź w wyniku nieużywania mięśnia w konsekwencji urazu. Wynikiem atrofia jest spadek średnicy włókien mięśniowych, zmniejszenie siły skurczu mięśnia, a także większa podatność mięśnia na kolejne urazy. Atrofia mięśni jest wielkim problemem społeczeństwa, które po pierwsze w coraz większym stopniu składa się z osób starych cierpiących na sarkopenię. Z tego też względu badania nad atrofią mięśni są ważne i powinny być prowadzone. Aby to było możliwe konieczne są modele badawcze. Ze względu na niezwykłą złożoność procesu atrofia wykorzystanie modeli in vitro jest właściwie niemożliwe. W związku z tym chciałbym wykorzystać model in vivo indukowanej atrofia mięśni szkieletowych.

Protokół będzie bazował na unieruchomieniu kończyny za pomocą tkaninowego plastra w maksymalnym rozkurczu mięśnia brzuchatego łydki. Unieruchomiona kończyna będzie następnie umieszczona w plastikowej próbówce typu „eppendorf”. Unieruchomienie kończyny spowoduje, że nieużywane mięśnie zaczną zanikać. Po okresie 14 dni i 21 dnia stopień atrofii zostanie oceniony poprzez porównanie mięśni kontrolnych: z myszy niepoddawanych zabiegowi unieruchomienia z mięśniami izolowanymi z kończyn unieruchomionych. Analizie poddane zostaną parametry takie jak: masa mięśnia, średnia średnica włókien mięśni szkieletowych, stopień zwłóknienia mięśnia. Ocenie poddane zostaną mięśnie: Gastrocnemius muscle (mięsień brzuchaty łydki), Extensor digitorum longus (mięsień prostownik palców długi) oraz Tibialis anterior muscle (mięsień piszczelowy przedni).

Zabieg powinien być bezbolesny i powodować wyłącznie ewentualny dyskomfort myszy spowodowany koniecznością przemieszczania się za pomocą 3 kończyn.

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

W opisanym doświadczeniu zaplanowałam wykorzystanie 44 myszy szczepu C57BL/6Tar.

Będą to 3 miesięczne samce.

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

Przed zaplanowaniem doświadczenia sprawdzono aktualny stan wiedzy na temat sposobów wywołania atrofii mięśni szkieletowych myszy.

---

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

Wykorzystano bazy PubMed i GoogleScholar używając słów kluczowych: skeletal muscle atrophy induction, skeletal muscle fibers atrophy, skeletal muscle atrophy analysis.

Na podstawie przeszukanej istniejącej literatury, stwierdzam że:

A. Dostępne materiały badawcze pozwalają na stwierdzenie, że unieruchomienie kończyny tylnej myszy przez okres 14 lub 21 dni powoduje częściowy zanik mięśni szkieletowych – atrofię.

B. Spośród dostępnych protokołów najłatwiejszym technicznie i najmniej obciążającym dla zwierzęcia wydaje się protokół wykorzystujący tkaninowy plaster unieruchamiający kończynę w maksymalnym wyprostowaniu stawu skokowego. Sprawdzenie skuteczności procedury immobilizacji kończyny w celu indukcji atrofi jest bardzo ważne. Jeżeli procedura okaże się skuteczna i powtarzalna, to bazując na uzyskanych wynikach będę wnioskował o finansowanie grantu badawczego mającego na celu sprawdzenie zmian w transkrypcji poszczególnych jąder komórkowych znajdujących się we włóknach mięśniowych. Projekt ten może mieć bardzo duże znaczenie w badaniach nad starzeniem mięśni – sarkopenii.

Ze względu na złożoność tkanki mięśniowej, która składa się nie tylko z włókien mięśniowych, ale również komórek satelitowych, komórek nerwowych, komórek stanu zapalnego, szeregu cytokin, czynników wzrostu, białek macierzy zewnątrzkomórkowej nie ma modelu *in vitro* pozwalającego badać proces atrofi mięśni. W związku z tym konieczne jest wykorzystanie modelu zwierzęcego, aby odwzorować zmiany, jakie wiążą się z zanikiem mięśni szkieletowych. Nie ma alternatywnego modelu umożliwiającego badanie tego złożonego procesu. Zatem nie można zastosować metody badawczej zapewniającej osiągnięcie określonych celów bez wykorzystania zwierząt (**zasada zastąpienia**).

Wszystkie doświadczenia zostały zaplanowane tak aby zminimalizować liczbę wykorzystanych zwierząt. Z każdego wykorzystanego do doświadczenia zwierzęcia pobrane zostaną 3 mięśnie szkieletowe i na każdym zostaną przeprowadzone analizy pozwalające określić stopień atrofi. Każdy pobrany mięsień będzie służył do uzyskania 4 uzupełniających się wyników: masa mięśnia, struktura mięśnia, średnica włókien, stopień zwłóknienia. Zatem liczba wykorzystywanych w nich zwierząt została ograniczona do poziomu niezbędnego do osiągnięcia określonych celów (**zasada ograniczenia**).

Doświadczenia będą wykonywane przez osoby z wieloletnim doświadczeniem w pracy ze zwierzętami, które będą dbały o ich dobrostan. W trakcie zabiegu zastosowane zostaną środki znieczulające, co pozwoli na ograniczenie dyskomfortu zwierząt. Wykorzystywane zwierzęta będą utrzymywane w warunkach odpowiednich dla ich gatunku. Dodatkowo będą regularnie monitorowane. Wszystkie planowane metody badawcze zostały wybrane tak, aby ograniczały do minimum dystres lub możliwość trwałego uszkodzenia organizmu zwierząt (**zasada udoskonalenia**).

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

X NIE

---

<sup>2</sup> Wypełnia właściwa lokalna komisja etyczna ds. doświadczeń na zwierzętach. Należy zaznaczyć właściwe pole.